



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA



SÍNTESE DE SUBSTRATOS MODELOS PARA REAÇÕES DE DESPROPARGILAÇÃO DE ÉTERES AROMÁTICOS

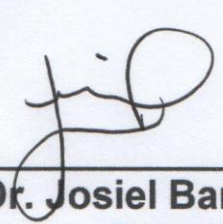
DAGWIN WACHHOLZ JÚNIOR

Florianópolis
Junho/2018

Dagwin Wachholz Júnior

**SÍNTESE DE SUBSTRATOS MODELOS PARA REAÇÕES DE
DESPROPARGILAÇÃO DE ÉTERES AROMÁTICOS**

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio II (QMC 5512)



Prof. Dr. Josiel Barbosa Domingos
Orientador

Florianópolis
Junho/2018

Dedico este trabalho ao meu *Opa* Lourival (*in memoriam*)

*„Groß und wunderbar sind deine Werke,
Herr, allmächtiger Gott!
Gerecht und wahrhaftig sind deine Wege,
du König der Völker." (Offb. 15,3)*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus.

Aos meus pais por todo ensinamento transmitido, pelo carinho recebido, pelo apoio, pela ajuda e paciência, e por todo tempo despendido para que eu pudesse me tornar a pessoa que sou hoje.

À minha irmã Kaedlyn por toda companhia e amizade, pelos *dog-calabresinha*, pelo compartilhamento de experiências e vivências. Pela confiança.

Às minhas *Omas* e meu *Opa* pelos exemplos de vida que para mim sempre representaram.

Aos meus tios e tias, pelo amparo, atenção e proteção.

À minha família meu eterno obrigado!

Aos meus amigos de graduação Felipe, Vanessa, Lucas e especialmente a Bruna (melhor dupla de laboratório) pela amizade e companheirismo compartilhado nesses anos de graduação.

A todos meus amigos do curso.

Aos meus amigos de longa data por tudo que com eles pude compartilhar.

Às pessoas importantes que passaram por minha vida durante a morada em Florianópolis.

Aos meus colegas do LaCBio pela experiência gratificante de poder conviver com esse grupo de pesquisa. Pela ajuda, pela motivação, pelas discussões de química, pelo conhecimento compartilhado, pelos churrascos, pelas faxinas. Por tudo.

Ao Prof. Josiel B. Domingos pela orientação, confiança e amizade durante todo tempo de graduação, simbolizando um exemplo de pesquisador e professor para todos. Muito obrigado.

A todos os professores que tive durante a graduação, representando para mim o mais alto nível de intelecto e responsabilidade, responsáveis pela exímia formação, não apenas racional, mas de caráter e personalidade. Estendo meu agradecimento a todos os educadores que de alguma forma passaram por minha vida, me influenciando, guiando e construindo meu conhecimento de mundo.

À UFSC, ao CFM e ao Departamento de Química por toda a infraestrutura disponibilizada.

Ao CNPq e a Capes pela ajuda financeira.

A todos que contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	15
2.1. Grupos protetores e química de desproteção	15
2.2. Ortogonalidade	16
2.3. Catálise bio-ortogonal	17
2.4. Catálise bio-ortogonal mediada por metais de transição	18
2.5. Clivagem de ligações C-O e C-N.....	20
2.6. Reações de O-despropargilação	22
3. OBJETIVOS	24
3.1. Objetivo Geral	24
3.2. Objetivos Específicos	24
4. METODOLOGIA	25
4.1. Materiais e métodos	25
4.1.1. <i>Solventes e Reagentes</i>	25
4.1.2. <i>Instrumentação</i>	25
4.1.2.1. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono– RMN ^1H e ^{13}C	25
4.1.2.2. Espectroscopia no infravermelho – IV	26
4.1.2.3. Espectrometria de massas de alta resolução (HRMS).....	26
4.1.2.4. Espectroscopia na região do UV-vis.....	26
4.1.2.5. Espectrometria de fluorescência	26
4.1.2.6. Ponto de fusão	26
4.1.2.7. Titulação espectrofotométrica	27
4.2. Procedimento experimental	27
4.2.1. <i>Síntese dos substratos modelos</i>	27
4.2.1.1. Síntese do 2-(2-hidroxifenil)-benzotiazol (1)	27
4.2.1.2. Síntese do 2-[2-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (2)	28
4.2.1.3. Síntese do 2-(3-hidroxifenil)-benzotiazol (3)	29
4.2.1.4. Síntese do 2-[3-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (4)	30
4.2.1.5. Síntese do 2-(4-hidroxifenil)-benzotiazol (5)	31

4.2.1.6. Síntese do 2-[4-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (6)	32
4.3. Segurança no laboratório e tratamento de resíduos	33
4.4. Determinação dos espectros eletrônicos no UV-vis	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1. Síntese e caracterização dos substratos	35
5.1.1. <i>Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H</i>	36
5.1.1.1. Caracterização dos substratos 2-HBPT, 3-HPBT e 4-HBPT	37
5.1.1.2. Caracterização dos substratos 2-PIPBT, 3-PIPBT e 4-PIPBT	39
5.1.2. <i>Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^{13}C e espectroscopia de massas de alta resolução (HRMS)</i>	42
5.1.3. <i>Espectroscopia vibracional no infravermelho</i>	45
5.1.3.1. Caracterização dos substratos 2-HPBT, 3-HPBT e 4-HPBT	45
5.1.3.2. Caracterização dos substratos 2-PIPBT, 3-PIPBT e 4-PIPBT	46
5.2. Determinação dos espectros eletrônicos no UV-vis	47
5.3. Titulação espectrofotométrica	57
5.4. Espectrometria de fluorescência	64
5.5. Investigação mecanística	67
5.5.1. <i>Estudos cinéticos</i>	67
6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	74
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Três exemplos de transformações quimiosseletivas de dois grupos funcionais: (a) labilidade modulada, (b) transformação ortogonal sequencial e (c) transformações simultâneas. Os grupos funcionais A e B podem estar em duas moléculas separadas (Fonte: Referência [1]).	16
Figura 2. Marcações bio-ortogonais de moléculas <i>in vivo</i> . Sondas químicas (círculos azuis) são instaladas em biomoléculas-alvo e permanecem estáveis em ambientes celulares. Numa segunda etapa, o grupo funcional se liga covalentemente a uma sonda exógena (arco azul) e deve fornecer adutos estáveis e ser minimamente perturbador para as biomoléculas não marcadas (círculo de triângulo) (Fonte: Referência [9]).	18
Figura 3. Esquema geral para a química intra e extracelular mediada por paládio (Fonte: Referência [22]).	19
Figura 4. Estratégia de desproteção mediada por paládio para a formação do ácido neurâmico em células vivas. a) Neu5Proc (1) serve como precursor para Neu (2) a partir de um reação de despropargilação. b) Neu5Proc é incorporado metabolicamente na superfície celular através da sialilação dos carboidratos terminais. Com a adição do catalisador de paládio, o grupo Proc é eliminado para formar o Neu <i>in situ</i> (Fonte: Referência [37]).	21
Figura 5. Espectro de RMN ^1H para o substrato 2-HPBT em CDCl_3 (200 MHz, região expandida de 6,2 a 8,1 ppm).	37
Figura 6. Espectro de RMN ^1H para o substrato 3-HPBT em CDCl_3 (200 MHz, região expandida de 6,8 a 8,2 ppm).	38
Figura 7. Espectro de RMN ^1H para o substrato 4-HPBT em CDCl_3 (200 MHz, região expandida de 6,8 a 8,1 ppm).	39
Figura 8. Espectro de RMN ^1H para o substrato 2-PIPBT em CDCl_3 (200 MHz, regiões expandidas de 2,55 a 2,85 ppm; de 4,90 a 5,00 ppm e de 7,90 a 8,60 ppm).	40
Figura 9. Espectro de RMN ^1H para o substrato 3-PIPBT em CDCl_3 (200 MHz, na região expandida de 2,5 a 5,0 ppm e de 6,9 a 8,2 ppm).	41
Figura 10. Espectro de RMN ^1H para o substrato 4-PIPBT em CDCl_3 (200 MHz, região expandida de 2,45 a 2,65 ppm; 4,65 a 4,85 ppm e de 6,7 a 8,2 ppm).	42
Figura 11. Espectro de RMN ^{13}C na região de 50,0 a 170,0 ppm para o substrato 3-PIPBT em CDCl_3 (200 MHz).	43
Figura 12. Espectro de RMN de DEPT-135 (200 MHz) na região de 50,0 a 170,0 ppm para o substrato 3-PIPBT em CDCl_3 .	43
Figura 13. Espectroscopia de massas de alta resolução do composto 3-PIPBT (4) utilizando fonte de ionização APPI.	44
Figura 14. Espectro na região do infravermelho para os substratos 3-HPBT (vermelho) e 3-PIPBT (preto) (pastilha de KBr).	47
Figura 15. (a) Espectro na região do UV-vis para o substrato 2-HPBT (tampão $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ 0,02 mol L^{-1} – pH = 11,0 / DMSO 5 %). (b) Curva de calibração para o substrato 2-HPBT em $\lambda_{\text{max}} = 375$ nm.	48

Figura 16. Níveis de energia dos orbitais moleculares de fronteira para o substrato 2-HPBT. ⁵²	49
Figura 17. Espectros eletrônicos na região do UV-vis para o 2-HPBT (0,03 mmol L ⁻¹) em pH = 8,54; 8,91 e 9,23 - DMSO 20 % e 27,5 °C.	51
Figura 18. (a) Espectro na região do UV-vis para o 2-PIPBT (tampão KH ₂ PO ₄ /Na ₂ HPO ₄ 0,02 mol L ⁻¹ – pH = 7,42 / DMSO 5 %). (b) Curva de calibração para o substrato 2-PIPBT em λ_{max} = 320 nm.	51
Figura 19. (a) Espectro na região do UV-vis para o substrato 3-HPBT (tampão KH ₂ PO ₄ /Na ₂ HPO ₄ 0,02 mol L ⁻¹ – pH = 7,42 / DMSO 5 %). (b) Curva de calibração para o substrato 3-HPBT em λ_{max} = 300 nm.	52
Figura 20. Espectro eletrônico na região do UV-vis para o 3-HPBT (0,03 mmol L ⁻¹) em pH = 9,85; 10,24 e 10,54 - DMSO 5 % e 27,5 °C.	53
Figura 21. (a) Espectro na região do UV-vis para o 3-PIPBT (tampão KH ₂ PO ₄ /Na ₂ HPO ₄ 0,02 mol L ⁻¹ – pH = 7,42 / DMSO 5 %). (b) Curva de calibração para o substrato 3-PIPBT em λ_{max} = 301 nm.	53
Figura 22. (a) Espectro na região do UV-vis para o 4-HPBT (tampão KH ₂ PO ₄ /Na ₂ HPO ₄ 0,02 mol L ⁻¹ – pH = 7,42 / DMSO 5 %). (b) Curva de calibração para o substrato 4-HPBT em λ_{max} = 315 nm.	54
Figura 23. Espectros eletrônicos na região do UV-vis para o substrato 4-HPBT (0,03 mmol L ⁻¹) em pH = 7,88; 8,12 e 8,54 – DMSO 5 % e 27,5 °C.....	55
Figura 24. (a) Espectros na região do UV-vis para o 4-PIPBT (tampão KH ₂ PO ₄ /Na ₂ HPO ₄ 0,02 mol L ⁻¹ – pH = 7,42 / DMSO 5 %). (b) Curva de calibração para o substrato 4-PIPBT em λ_{max} = 312 nm.	55
Figura 25. Variação espectral na região de UV-vis em função do pH para o 2-HPBT (3,5 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹) titulado com NaOH (0,1 mol L ⁻¹).	58
Figura 26. (a) Dependência da absorvância pelo pH nos comprimentos de onda 330 nm (bola vermelha) e 380 nm (quadrado preto). (b) Linearização da equação de Henderson-Hasselbach.....	59
Figura 27. Variação espectral na região de UV-vis em função do pH para o substrato 3-HPBT (0,03 mmol L ⁻¹) titulado com NaOH (0,1 mol L ⁻¹).	60
Figura 28. (a) Dependência da absorvância pelo pH nos comprimentos de onda 260 nm (quadrado preto), 300 nm (bola vermelha) e 350 nm (triângulo azul). (b) Linearização da equação de Henderson-Hasselbach.	61
Figura 29. Variação espectral na região de UV-vis em função do pH para o substrato 4-HPBT (0,03 mmol L ⁻¹) titulado com NaOH (0,1 mol L ⁻¹).	61
Figura 30. (a) Dependência da absorvância pelo pH nos comprimentos de onda 315 nm (quadrado preto) e 350 nm (bola vermelha). (b) Linearização da equação de Henderson-Hasselbach.....	62
Figura 31. Estrutura do substrato 2-HPBT evidenciando o fenômeno de ligação de hidrogênio intramolecular.	63
Figura 32. (a) Espectros de absorção e de emissão de fluorescência normalizada para o 2-HPBT (1). (b) Espectro 3D de fluorescência do 2-HPBT (1) em DMSO.	64

Figura 33. Diagrama de quatro níveis, representando o fenômeno de ESIPT e emissão de fluorescência pelo tautômero ceto em maiores comprimentos de onda. ⁵⁸	65
Figura 34. (a) Espectros de absorção e de emissão de fluorescência normalizada para o 2-PIPBT (2). (b) Espectro 3D de fluorescência do 2-PIPBT (2) em DMSO 5 %.....	66
Figura 35. Cinéticas espectrais para a reação de O-despropargilação do substrato 4-PIPBT (0,05 mmol L ⁻¹) catalisada por Na ₂ PdCl ₄ (0,025 mmol L ⁻¹) em diferentes concentrações de EtOH (tampão KH ₂ PO ₄ / Na ₂ HPO ₄ 0,02 mol L ⁻¹ – pH = 7,42) a 27,5 °C.....	68
Figura 36. Cinética espectral da O-despropargilação do substrato 4-PIPBT (0,05 mmol L ⁻¹) catalisada por Na ₂ PdCl ₄ (0,025 mmol L ⁻¹) em EtOH 25 % a 27,5 °C, e fotografia das cubetas no início da reação (esquerda) e após 10 h (direita).....	69
Figura 37. Cinéticas espectrais para a reação de O-despropargilação dos substrato (a) 2-PIPBT e (b) 3-PIPBT (0,05 mmol L ⁻¹) catalisada por Na ₂ PdCl ₄ (0,025 mmol L ⁻¹) em EtOH 25 % (tampão Na ₂ CO ₃ / NaHCO ₃ 0,02 mol L ⁻¹ – pH = 10,0) a 27,5 °C.	70
Figura 38. Variação espectral na região do UV-vis para a formação do complexo Pd(2-HPBT) ₂ . ([2-HPBT] = 0,05 mmol L ⁻¹ , [Pd ²⁺] = 0,025 mmol L ⁻¹ , tampão Na ₂ CO ₃ / NaHCO ₃ – pH = 10,17; 27,5 °C).	71
Figura 39. Variação da absorbância em 440 nm do complexo formado em diferentes frações em mol de paládio (“gráfico de Job”), 27,5 °C, pH 10,17.	72
Figura 40. Possível estrutura para o complexo [Pd(2-HPBT) ₂] considerando a estrutura do ligante.	73

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Mecanismo proposto para a reação de despropargilação na presença de $(PPh_3)_2PdCl_2$ (Fonte: Referência [42]).	22
Esquema 2. Possível mecanismo para a reação de despropargilação catalisada por Pd/C Fonte: Referência [43].	23
Esquema 3. Preparação do 2-(2-hidroxifenil)-benzotiazol (1) .	27
Esquema 4. Preparação do 2-[2-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (2) .	28
Esquema 5. Preparação do 2-(3-hidroxifenil)-benzotiazol (3) .	29
Esquema 6. Preparação do 2-[3-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (4) .	30
Esquema 7. Preparação do 2-(4-hidroxifenil)-benzotiazol (5) .	31
Esquema 8. Preparação do 2-[4-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (6) .	32
Esquema 9. Representação esquemática dos processos fotofísicos do substrato 2-HPBT. ⁵³	50
Esquema 10. Representação esquemática da reação de despropargilação dos substratos 2, 3 ou 4-PIPBT.	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Volumes utilizados na determinação da curva de calibração dos substratos (1 a 6) .	34
Tabela 2. Compilação dos dados obtidos na síntese dos substratos.	35
Tabela 3. Atribuição para as principais bandas de absorção na região do IV (cm^{-1}) obtidas para os substratos 2-HPBT, 3-HPBT e 4-HPBT. ^a	45
Tabela 4. Atribuição para as principais bandas de absorção na região do IV (cm^{-1}) obtidas para os substratos 2-PIPBT, 3-PIPBT e 4-PIPBT. ^a	46
Tabela 5. Propriedades fotofísicas dos substratos 2, 3 e 4-HPBT e 2, 3 e 4-PIPBT.	56
Tabela 6. Valores de constante de acidez para os substratos 2-HPBT, 3-HPBT e 4-HPBT.	63
Tabela 7. Propriedades fotofísicas de fluorescência dos substratos 1 a 6 .	66

LISTA DE ABREVIATURAS

(PPh₃)₂PdCl₂ – Dicloro-bis(trifenilfosfina)paládio(II)
A_{HIn} – Absorbância da espécie totalmente protonada
A_{In⁻} – Absorbância da espécie totalmente desprotonada
Boc – *tert*-butiloxicarbonil
BRINE – Solução supersaturada de cloreto de sódio
Bu₃SnH – Hidreto de tributilestanho
Cbz – benziloxicarbonil
CDCl₃ – Clorofórmio deuterado
CuAAC – *Copper(I)-catalyzed Azide-Alkyne cycloaddition* – Cicloadição azida-alcino catalisada por Cu(I)
DEPT – *Distortionless enhancement by polarization transfer* – Intensificação da distorção por transferência de polarização
DMF – Dimetilformamida
DMSO – Dimetilsulfóxido
ESIPT – *Excited state intramolecular proton transfer* – Transferência protônica do estado excitado
EtOAc – Acetato de etila
EtOH – Etanol
Fmoc – 9-fluorenilmetoxicarbonil
HRMS – Espectroscopia de massas de alta resolução
Hz – Hertz
IV – Espectroscopia vibracional na região do infravermelho
J – Constante de acoplamento
MEM - metoxietoximetil
Neu – Ácido neurâmico
Neu5Ac – Ácido *N*-acetilneuramínico
Neu5Proc – Ácido *N*-propargiloxicarbonilneuramínico
P.F. – Ponto de fusão
Pd – Paládio
pH – Potencial hidrogeniônico
p*K*_a – Constante de dissociação ácida em escala logarítmica
RMN ¹H – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
Sml₂ – Iodeto de samário
SPAAC – *Strain promoted Azide-Alkyne cycloaddition* – Cicloadição azida-alcino promovida por tensão
t.a. – Temperatura ambiente
tBu – *tert*-butil
THF – Tetra-hidrofurano
TMS – Tetrametilsilano
UV-vis – Ultravioleta visível
v – Estiramento axial simétrico ou assimétrico

RESUMO

O uso de catalisadores para mediar transformações quimiosseletivas em condições fisiológicas é uma adição recente ao campo da biologia química, um campo denominado de “catálise bio-ortogonal”. Uma das principais reações utilizando paládio como catalisadores bio-ortogonais é a desproteção de grupos aminas e alcoóis através da clivagem de ligações CN e C-O, com as mais diversas aplicações, entre elas a ativação espaço-temporal de proteínas em células vivas. Dentre as aplicações, a reação de despropargilação se destaca, visto sua maior eficiência quando comparada com outras reações de desproteção. O mecanismo destas reações catalisadas por paládio, todavia, é incerto, pois nenhum estudo mecanístico sistemático foi realizado até o presente momento. Neste contexto, este projeto visa o desenvolvimento de novos substratos modelos para aplicação na catálise bio-ortogonal de reações de despropargilação de éteres aromáticos, como pré-requisito para o entendimento do mecanismo e desenvolvimento de novos catalisadores. Ao todo foram sintetizados seis substratos partindo do 2-aminotiofenol e do 2-, 3- ou 4-hidroxibenzaldeído, seguido da propargilação dos mesmos, com rendimentos entre 23 % e 88 %, e grau de pureza adequado para o uso desses em reações de O-despropargilação. A caracterização dos compostos foi realizada pela análise de RMN de ^1H e de ^{13}C , por IV, HRMS e por ponto de fusão. Avaliaram-se ainda os espectros de absorção na região do UV-vis e de fluorescência dos novos substratos, visto que é de interesse que os mesmos forneçam produtos cuja formação possa ser acompanhada por espectrofotometria de UV-vis. Todas as bandas na região do UV-vis foram atribuídas as principais transições presentes nos compostos e os coeficientes de absorvidade molar foram determinados, sendo que os substratos propargilados apresentaram os menores valores, devido a mudança na planaridade da estrutura. Os estudos cinéticos foram realizados em meio aquoso, avaliando-se a reação de O-despropargilação catalisada por paládio. Os substratos não se mostraram, todavia, bons modelos para o acompanhamento dessa reação, visto a dificuldade de acompanhar a cinética por UV-vis. (Observou-se ainda a formação do complexo $[\text{Pd}(\text{2-HPBT})_2]$.)

Palavras-chave: bio-ortogonalidade; O-despropargilação; mecanismo; catálise.

1. INTRODUÇÃO

O entendimento das inúmeras transformações químicas presentes na natureza sempre foi alvo de estudo por parte dos cientistas. A criação de tecnologias de forma racional baseia-se na compreensão do funcionamento natural de todos os processos químicos e físicos aos quais estamos submetidos e na aplicação desses conhecimentos no seu desenvolvimento. Muitas das lacunas ainda hoje presentes no mundo científico estão relacionadas com a incapacidade de compreender de forma eficiente os mecanismos bioquímicos do corpo humano e outros seres vivos. A complexidade dessas transformações é a maior barreira imposta à inovação tecnológica.

Um dos ramos mais promissores na utilização de conhecimentos da natureza para a construção e criação de novas tecnologias é o da biologia química. A biologia química tem como diretriz o desenvolvimento de estudos que façam interface entre a biologia e a química, envolvendo a utilização de ferramentas químicas para compreender e modular os sistemas biológicos. Dentre seus diversos ramos, a "catálise bio-ortogonal" vem ganhando interesse gradual visto o uso de catalisadores para mediar transformações quimiosseletivas em condições fisiológicas.¹

Essas transformações incluem o conceito de bio-ortogonalidade, importantíssimo para a compreensão do modo de funcionamento de reações químicas em organismos vivos.² Uma das principais reações utilizando paládio como catalisador bio-ortogonal é a desproteção de grupos aminas e álcoois através da clivagem de ligações C-N e C-O, com as mais diversas aplicações, entre elas a ativação espaço-temporal de proteínas em células vivas e a criação de sondas para identificação de espécies metálicas no meio celular.^{3,4} Dentre as aplicações, se destaca a reação de despropargilação considerando sua maior eficiência quando comparada com outras reações de desproteção. O mecanismo destas reações catalisadas por paládio, todavia, é incerto, pois nenhum estudo mecanístico sistemático foi realizado até o presente momento. Neste contexto, este projeto visa o desenvolvimento de novos substratos modelos para aplicação na catálise bio-ortogonal de reações de despropargilação de éteres aromáticos, como pré-requisito para o entendimento do mecanismo e desenvolvimento de novos catalisadores que possam ser aplicados na criação de tecnologias úteis a sociedade.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Grupos protetores e química de desproteção

A utilização de grupos protetores na química permitiu o desenvolvimento de numerosas estratégias sintéticas para transformações orgânicas de múltiplas etapas e para a síntese de moléculas complexas, desempenhando um importante papel na síntese orgânica.⁵

Por grupos protetores entende-se a utilização de um ente químico para a modificação de um grupo funcional específico em uma molécula, a fim de se obter uma maior quimiosseletividade. A quimiosseletividade de uma reação pode ser entendida como a habilidade de um grupo funcional da molécula reagir sem que os outros sítios potencialmente reativos sejam afetados.⁶ Alguns critérios devem ser levados em conta durante a escolha de um grupo protetor apropriado para uma função particular. Primeiramente a introdução do grupo protetor na molécula deve ser realizada de maneira fácil, de forma seletiva e com altos rendimentos. Esse grupo protetor deve ser estável sob as condições reacionais seguintes, incluindo a purificação e a remoção do grupo protetor. Por último, o grupo deve ser removido em condições brandas de maneira seletiva e com rendimentos elevados.^{5,7}

Inúmeros exemplos de estratégias de proteção são relatados na literatura para os mais diversos grupos funcionais. Na proteção de álcoois utilizam-se frequentemente os grupos protetores acíclicos metoxietoximetil (MEM), benziloximetil (BOM) e *tert*-butóxi (*t*-Bu), entre outros exemplos. O uso dos grupos protetores *tert*-butiloxicarbonil (BOC) e 9-fluorenilmetoxicarbonil (Fmoc) são comuns para a proteção de grupamentos amina.⁵ Outro exemplo de grupo protetor para aminas é o benziloxicarbonil (Cbz) desenvolvido no trabalho de Bergmann e Zervas.⁸ Esse grupo protetor é considerado como o primeiro grupo protetor “moderno”.

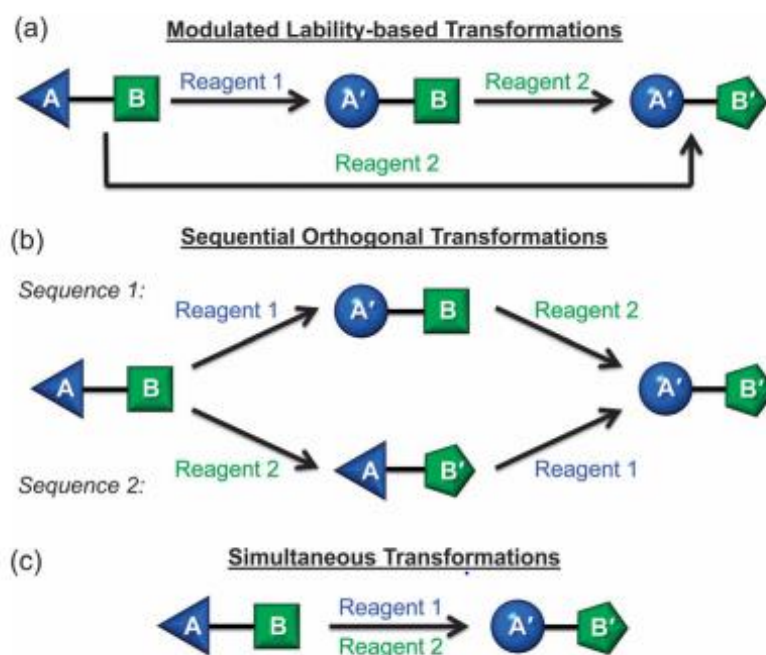
Considerável quantidade de grupos de proteção está disponível atualmente e o número continua crescendo, visto o desenvolvimento de novas moléculas. Esses grupos protetores são classificados em famílias de acordo com o grupo funcional que protegem, sua labilidade e o mecanismo de remoção.⁷ Tanto os mecanismos de proteção como desproteção são técnicas comuns e igualmente importantes para entendimento das múltiplas etapas de uma reação, a fim de um desenvolvimento racional de novas estratégias sintéticas.

2.2. Ortogonalidade

Quando dois ou mais grupos protetores que pertencem a famílias diferentes são removidos por mecanismos distintos, esses grupos são considerados de proteção "ortogonal". O termo "ortogonal" tem sua origem no ano de 1977 com o trabalho de Barany e Merrifield na proteção de grupos amino na síntese de peptídeos.⁹

Merrifield referiu-se à expressão ortogonalidade como uma estratégia de remoção de grupos protetores. Na prática, a remoção de grupos protetores nas reações ortogonais pode ocorrer em qualquer ordem, visto que cada uma das reações de desproteção é quimiosseletiva e ocorre por mecanismos distintos, ou seja, diferentes transformações sequenciais levam ao mesmo produto (Figura 1b).¹ Já quando as reações de desproteção são controladas pela reatividade dos grupos protetores, a inversão na ordem das etapas de desproteção é impossibilitada, e essa técnica é baseada na abordagem da labilidade modulada.⁷ Um exemplo no qual a reatividade dos grupos protetores rege o mecanismo de desproteção é a clivagem ácida de dois grupos acetais, com reatividade gradual. O aumento na acidez da reação remove primeiramente e inteiramente um grupo, seguido do outro (Figura 1a).¹

Figura 1. Três exemplos de transformações quimiosseletivas de dois grupos funcionais: (a) labilidade modulada, (b) transformação ortogonal sequencial e (c) transformações simultâneas. Os grupos funcionais A e B podem estar em duas moléculas separadas (Fonte: Referência [1]).



A combinação ortogonal de grupos protetores mais comumente utilizada é o par Fmoc/ *t*-Bu. A descoberta do grupo 9-fluorenilmetoxycarbonila (Fmoc) por Carpino¹⁰ na proteção de aminas e sua desproteção em meio levemente básico, juntamente com a remoção em meio ácido do grupo protetor *tert*-butil (*t*-Bu) representa um excelente par de proteção ortogonal de acordo com a definição de Merrifield e Barany, visto que Fmoc pode ser removido seletivamente na presença de *t*-Bu e esse pode ser separado em condições que deixam o grupo amino protetor intacto.^{1,11}

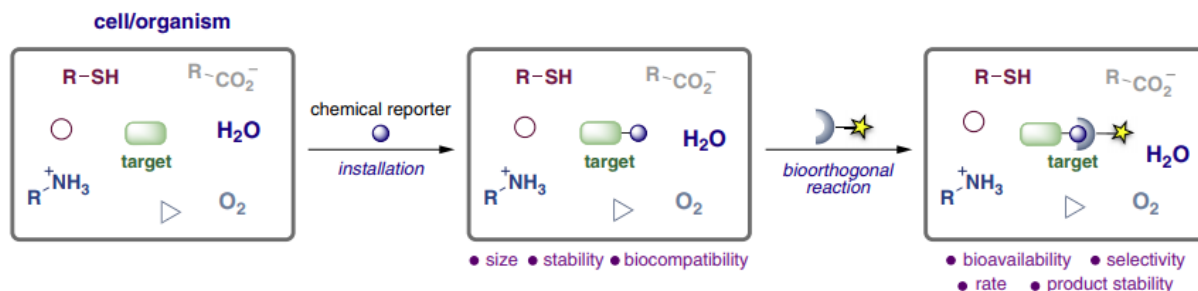
O número de “dimensões” de um sistema ortogonal pode ser aumentado com o acréscimo de outros grupos protetores na molécula de interesse.¹² Outra forma de aumentar a complexidade de um sistema ortogonal é a multi-funcionalização de várias etapas de maneira simultânea, onde todos os reagentes são adicionados em um único balão (Figura 1c). Esse tipo de transformação simultânea representa um modelo mais rigoroso da ortogonalidade, pois além dos reagentes serem seletivos para as suas respectivas funcionalidades eles não devem afetar um ao outro.¹³

2.3. Catálise bio-ortogonal

Em sistemas ortogonais mais complexos, nos quais existe uma multiplicidade de etapas, os estudos de uma série de biomoléculas tem se tornado de extrema importância numa combinação da síntese orgânica com a biologia química, nas chamadas “reações bio-ortogonais”.^{2,3} Essas reações são transformações químicas realizadas por meio de um material sintético compatível com o meio biológico e que deve reagir rapidamente e de forma seletiva em condições fisiológicas, sendo ferramentas úteis no estudo de biomoléculas funcionalizadas. Exemplos desses processos bio-ortogonais são a marcação/ativação espaço temporal de proteínas em células vivas e a ativação de pró fármacos no ambiente extracelular.¹⁴⁻¹⁷

A utilização de conceitos químicos *in vivo* na catálise bio-ortogonal envolve, normalmente, duas etapas. Em uma primeira etapa, um grupo químico funcional biocompatível (“repórter químico”), normalmente grupos azida, alcinos ou alcenos é incorporado a um substrato metabólico, por exemplo um anticorpo. Em seguida, visto que o grupo funcional atingiu seu alvo (biomolécula) a segunda etapa envolve uma reação altamente seletiva, denominada bio-ortogonal (Figura 2).^{3,18,19}

Figura 2. Marcações bio-ortogonais de moléculas *in vivo*. Sondas químicas (círculos azuis) são instaladas em biomoléculas-alvo e permanecem estáveis em ambientes celulares. Numa segunda etapa, o grupo funcional se liga covalentemente a uma sonda exógena (arco azul) e deve fornecer adutos estáveis e ser minimamente perturbador para as biomoléculas não marcadas (círculo de triângulo) (Fonte: Referência [9]).



Os grupos funcionais normalmente utilizados nessas reações estão relacionados a aminoácidos e são muitas vezes não naturais. Esses grupos são incorporados na biomolécula de interesse através de meios genéticos, bioquímicos ou químicos. As formas de ligação mais comumente utilizadas são a ligação Staudinger (azida e fosfina), a cicloadição azida-alcino promovida por tensão (SPAAC) e as reações que envolvem ligação tetrazina e alcinos terminais.^{18,20,21} A utilização de metais de transição, entretanto, para mediar essas transformações quimiosseletivas em células têm se mostrado desafiadora para o mundo científico, sendo criado um novo campo denominado de “catálise metálica bio-ortogonal”.²²⁻²⁴

2.4. Catálise bio-ortogonal mediada por metais de transição

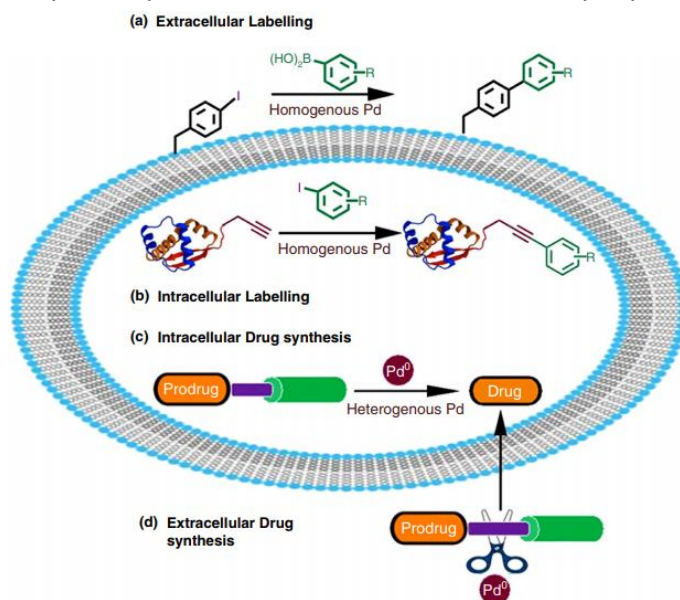
Os catalisadores bio-ortogonais operam no reconhecimento seletivo de grupos funcionais específicos, e catalisam as suas transformações, nesse caso dentro de sistemas vivos. Um catalisador eficiente deve estar sempre em um equilíbrio entre reatividade e estabilidade. A presença de ar, água e outros componentes celulares exigem uma elevada estabilidade do catalisador. A influência das condições fisiológicas, como temperatura e pH e as baixas concentrações de reagentes no meio celular requerem uma alta reatividade do catalisador frente ao substrato de interesse.²⁴ Consequentemente, o desenvolvimento de catalisadores metálicos vem se tornando um desafio na catálise bio-ortogonal.

A reação de ciclo adição azida-alcino catalisada por Cu (CuAAC), desenvolvida de forma independente por Sharpless²⁵ e col. e Meldal²⁶ e col. em 2002 foi um ponto

chave no desenvolvimento de catalisadores metálicos para a catálise bio-ortogonal. Apesar do Cu(I) ser a espécie envolvida durante o processo de catálise, as fontes de cobre utilizadas para a reação “click” podem variar. O grupo de Meldal originalmente utilizou sais de Cu(I) na reação, enquanto o grupo de Sharpless investigou o uso de sais de Cu(II) na presença de um redutor para formar a espécie catalítica *in situ*. Atualmente, a escolha da fonte de cobre é feita com base nas necessidades especiais de cada reação e são inúmeras as combinações já descritas na literatura.²⁷ A citotoxicidade dos íons de Cu(I), todavia, dificulta a utilização direta de CuAAC em células vivas.²⁸ A fim de evitar o problema da toxicidade, outros métodos sem cobre para reações de acoplamento tipo “click” foram desenvolvidos, como por exemplo a cicloadição azida-alcino promovida por tensão (SPAAC) descrita por Bertozzi e col.²⁹ A utilização de outros metais de transição como rutênio, irídio, ferro ou paládio, vem se tornando uma alternativa interessante como fontes para promover as reações de acoplamento bio-ortogonal em um ambiente vivo, além de reações de desproteção e modificação de grupos funcionais.^{24,30}

Em meio aos diversos metais de transição, o paládio vem se destacando como um potencial catalisador no campo da biologia química. Isso se deve principalmente às propriedades catalíticas únicas conhecidas para o paládio e a sua inércia biológica, sendo que o paládio de valência zero (Pd(0)) apresenta o menor perfil de toxicidade dentre todas as espécies de paládio.³¹ Inúmeras transformações químicas mediadas por paládio em meios intra e extracelulares são relatadas na literatura, incluindo as reações de acoplamento do tipo Suzuki-Miyaura e Sonogashira (Figura 3).²²

Figura 3. Esquema geral para a química intra e extracelular mediada por paládio (Fonte: Referência [22]).



2.5. Clivagem de ligações C-O e C-N

Mesmo que uma grande variedade de reações bio-ortogonais tenham sido desenvolvidas, elas vêm sendo aplicadas principalmente em reações de acoplamento, ou seja, de formação de ligações. Para reações de clivagem de ligações, como reações de desproteção de grupos funcionais, o método preferido tem sido a utilização de luz.^{32,33} De forma geral, grupos fotolábeis formam um sistema ortogonal com uma ampla variedade de grupos protetores porque a luz pode ser absorvida de forma seletiva por cada um dos grupos. A criação de grupos fotolábeis que reajam independentemente com a luz em comprimentos de onda diferentes possibilita o desenvolvimento racional de reações com ortogonalidade cromática.^{34,35} Para ativar uma enzima, por exemplo, a partir de um precursor não-funcional, a química de ligação clássica pode ser substituída pelo uso de grupos protetores fotolábeis.

A fim de ter um maior controle químico do processo de clivagem de ligações em sistemas vivos, o desenvolvimento de reações bio-ortogonais mediadas por paládio tem mostrado o metal como um elemento promissor em reações de ativação.^{15,22,30,36}

Os primeiros exemplos da aplicação de paládio mediando reações de clivagem de ligação foram relatados em trabalhos de monitoramento do acúmulo de espécies de paládio em organismos vivos através da ativação de quimiossensores fluorescentes pelo próprio paládio.^{4,37} A detecção das espécies de paládio ocorreu seletivamente e a temperatura ambiente através da reação de clivagem da ligação C-O catalisada por paládio em substratos com grupos propargílicos e alílicos.

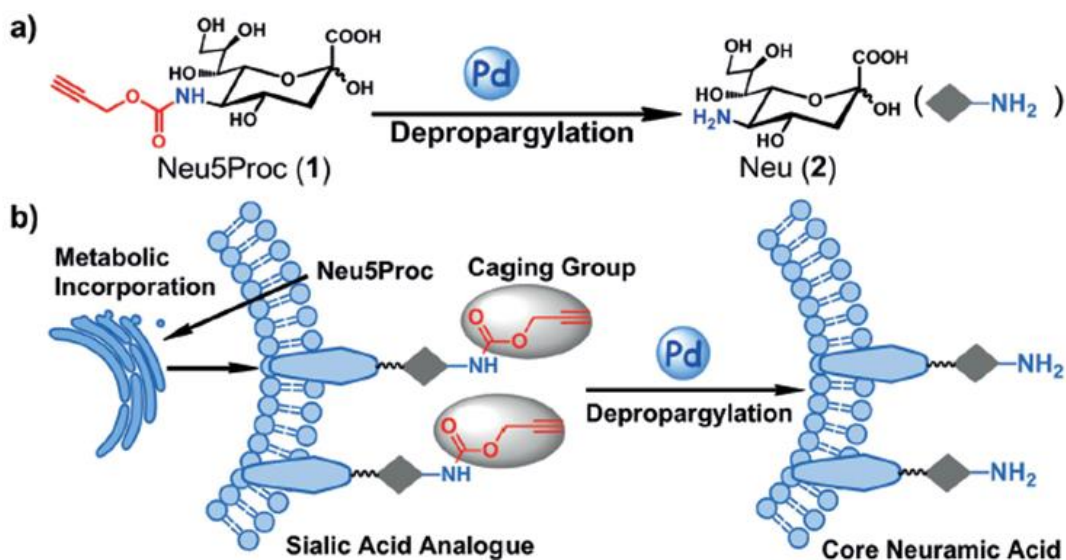
Recentemente, em um estudo sobre a ativação de proteínas em sistemas *in vivo*, Li e col. utilizaram como estratégia de ativação a reação de clivagem de uma ligação C-O de correspondentes da lisina protegidos por grupos carbamato alílico ou propargílico, utilizando diferentes sais de Pd como catalisadores. Identificou-se nesse estudo que todos os sais de paládio utilizados foram mais eficientes na catálise da reação de despropargilação e além disso, a desproteção do grupo propargílico mostrou-se eficiente com catalisadores de paládio em todos os estados de oxidação típicos (0, +2 e +4), enquanto o grupo alílico pôde ser apenas desprotegido por espécies de Pd (0). Outra vantagem do grupo propargílico em comparação com o alílico, é que a eficiência de desproteção pôde ser quantificada utilizando a porção

alcino das moléculas não reagidas, a partir de uma reação *click* e análises de fluorescência.¹⁵

Chankeshwara e col. relataram a utilização de um catalisador heterogêneo baseado em Pd (0) na reação de clivagem da ligação C-N. Esse catalisador pioneiro possuía a capacidade de atravessar membranas celulares sem causar danos ao sistema vivo.²² A atividade catalítica intracelular das microesferas de Pd (0) foi investigada dentro de células vivas através da reação de desproteção da bis-*N,N'*-aliloxicarbonil rodamina 110, utilizando células HeLa como sistema modelo.

Em um trabalho bastante recente de Wang e col.³⁷, o uso de espécies de paládio para reações de clivagem biocompatíveis mostrou-se promissor para substratos propargilados. No referido estudo, gerou-se *in situ* o ácido neurâmico (Neu), a partir do precursor *N*-(propargiloxicarbonil) ácido neurâmico (Neu5Proc), através da reação de despropargilação catalisada por nanopartículas de paládio (preparadas pela redução com borohidreto de sódio), Figura 4. Esta conversão química imita a enzimática des-*N*-acetilação do ácido *N*-acetilneurâmico (Neu5Ac), um mecanismo proposto para a ocorrência natural de Neu nas posições terminais de glicoconjugados da superfície celular.

Figura 4. Estratégia de desproteção mediada por paládio para a formação do ácido neurâmico em células vivas. a) Neu5Proc (1) serve como precursor para Neu (2) a partir de uma reação de despropargilação. b) Neu5Proc é incorporado metabolicamente na superfície celular através da sialilação dos carboidratos terminais. Com a adição do catalisador de paládio, o grupo Proc é eliminado para formar o Neu *in situ* (Fonte: Referência [37]).

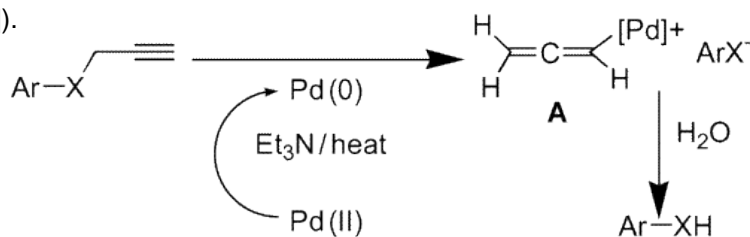


2.6. Reações de O-despropargilação

A desproteção de grupos aminas/éteres através da clivagem de ligações C-N e C-O catalisadas por paládio já vem sendo estudada, especialmente para grupos alílicos, vinílicos e benzílicos.³⁶ Para as reações de *N*- e *O*-despropargilação, contudo, são relatados exemplos limitados, e na sua maioria mediados por aditivos como Bu_3SnH , Sml_2 ou tetratimolibdato (TTM).³⁸⁻⁴¹ O mecanismo destas reações, todavia, é ainda desconhecido considerando que nenhum estudo mecanístico sistemático foi realizado. Alguns trabalhos reportados na literatura propõem possíveis mecanismos da reação de despropargilação catalisada por paládio, embora ainda não tenham estudos cinéticos.

Em um artigo publicado em 2003, Pal⁴² e col. estudaram a reação de despropargilação de aminas e éteres utilizando como pré-catalisador o sal $(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2$ em DMF- H_2O (2:1), na presença de trietilamina a 80 °C. Neste trabalho os autores propuseram que o Pd(II) sofre uma reação de redução no meio para formar Pd(0), que em seguida se adiciona à ligação tripla, formando um intermediário alenilpaládio (Esquema 1 – A) com a clivagem da ligação C-X (X=O, N). O intermediário formado sofre então um ataque nucleofílico no carbono *sp* central por uma molécula de água, liberando assim a anilina ou fenol, sendo que o catalisador é regenerado a Pd(0).

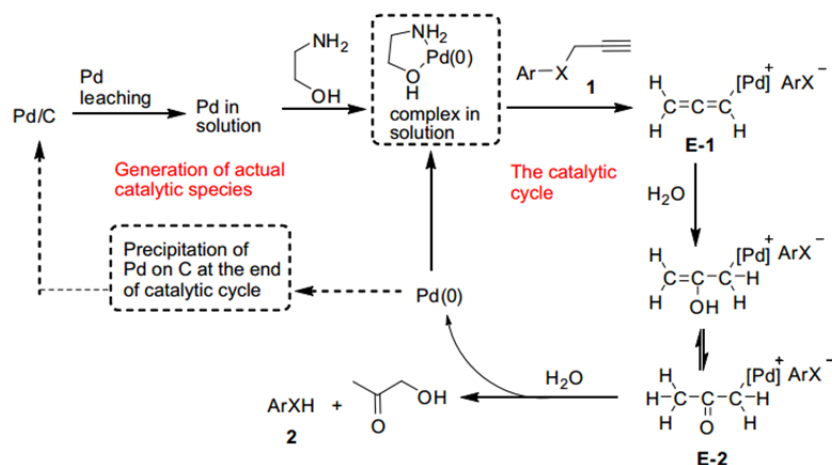
Esquema 1. Mecanismo proposto para a reação de despropargilação na presença de $(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2$ (Fonte: Referência [42]).



Rambabu⁴³ e col. realizaram um estudo sobre a reação de despropargilação de aminas e éteres utilizando como catalisador Pd/C em H_2O , também na presença de etanolamina a 80°C, sob atmosfera de nitrogênio. Em seu estudo, os autores propõem que a clivagem da ligação C-X segue através da geração *in situ* de espécies ativas de Pd(0) a partir da lixiviação da menor porção da ligação Pd/C, que complexam com etanolamina. Dessa forma, o ciclo catalítico funciona em solução e não na superfície do catalisador Pd/C, ocorrendo a precipitação de Pd sobre o carvão ao final da reação.

O complexo formado por Pd(0) e etanolamina reage rapidamente com a amina ou éter propargílico levando à formação de um intermediário alenilpaládio (Esquema 2 – E-1). O intermediário é então atacado nucleofilicamente no carbono *sp* central por uma molécula de água, seguido de tautomerização para se obter o intermediário α -Pd carbonil (Esquema 2– E-2). A hidrólise subsequente desse intermediário (E-2) libera o fenol ou a anilina desejada, uma hidroxiacetona (1-hidroxi-2-propanona) e a regeneração de Pd(0) para completar o ciclo catalítico.

Esquema 2. Possível mecanismo para a reação de despropargilação catalisada por Pd/C Fonte: Referência [43].



É necessário salientar que em nenhum dos dois trabalhos foi realizado um estudo cinético, detecção/determinação de intermediários e espécies catalíticas ou qualquer outra análise mecanística, para a proposição dos mecanismos.

O mesmo mecanismo é citado ainda em trabalhos que relatam espécies de Pd(0) mediando reações de O-despropargilação para a ativação de quimiossensores fluorescentes.^{37,44,45} Nesses trabalhos também há a proposta de um mecanismo alternativo quando a despropargilação é catalisada por espécies de Pd(+2) e Pd(+4), esse ocorrendo através da formação de intermediários de hidratação. No caso de éteres propargílicos ou terminais, para formar compostos carbonílicos internos ou terminais, no qual o último pode sofrer uma β -eliminação e a despropargilação.

Dessa forma, devido ao grande abismo entre as recentes aplicações da catálise bio-ortogonal por paládio nas reações de despropargilação e o entendimento do seu modo de ação (mecanismo) como sendo pré-requisito para o desenvolvimento racional de novos catalisadores, este projeto pretende contribuir diretamente na modelagem e na síntese de novos substratos para o estudo mecanístico da reação de O-despropargilação de éteres mediada por espécies de paládio 0 e +2.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

O presente trabalho tem por objetivo a preparação de substratos modelos baseados em estudos da literatura para a investigação e elucidação do mecanismo de O-despropargilação de éteres aromáticos pela técnica de espectroscopia de UV-vis e fluorescência.

3.2. Objetivos Específicos

- Sintetizar os diferentes precursores dos substratos modelos (2-HPBT **(1)**, 3-HPBT **(3)** e 4-HPBT **(5)**).
- Realizar a reação de propargilação dos respectivos substratos (2-PIPBT **(2)**, 3-PIPBT **(4)** e 4-PIPBT **(6)**).
- Caracterizar todos os produtos (**1 a 6**) através de técnicas de infravermelho, RMN de ^1H e de ^{13}C e HRMS.
- Determinar os espectros eletrônicos (UV-vis/ fluorescência) dos substratos (**1 a 6**) sintetizados, bem como calcular o coeficiente de absorvidade molar.
- Determinar a partir da titulação espectrofotométrica a constante de dissociação para os produtos 2-HPBT **(1)**, 3-HPBT **(3)** e 4-HPBT **(5)**.
- Realizar estudos cinéticos na região do UV-vis e fluorescência, investigando o mecanismo de O-despropargilação e determinar a influência da posição do grupo propargilado nessa reação.
- Apresentar os resultados obtidos na forma de pôster em congressos regionais (SBQ-Sul) e nacionais.

4. METODOLOGIA

4.1. Materiais e métodos

4.1.1. Solventes e Reagentes

Todos os reagentes utilizados na síntese dos substratos modelos foram adquiridos de fontes comerciais, como Aldrich, JT Baker e Nuclear, e utilizados sem purificação prévia. Os solventes utilizados na realização desse trabalho foram obtidos de fontes comerciais procedentes das marcas Vetec, Quimidrol e Synth. Dentre os solventes utilizados nas extrações líquido-líquido e nas colunas cromatográficas, o acetato de etila, diclorometano e n-hexano foram destilados antes do uso. A purificação de solventes, quando necessário, foi realizada conforme procedimentos descritos na literatura.⁵⁴ Os produtos obtidos foram purificados por cromatografia em coluna (CC) utilizando uma coluna de vidro, sílica gel 60 Å (70-230 mesh) como fase estacionária e n-hexano/acetato de etila em proporções adequadas como eluente. As frações purificadas foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada com folhas de gel de sílica da marca Macherey-Nagel G/UV254 com 0,20 mm obtidas de fonte comercial. Como método de revelação, utilizou-se cuba de iodo e luz ultravioleta. Os equipamentos utilizados na síntese dos novos compostos (balança, agitadores magnéticos, rotaevaporadores, centrífuga, banho termostatizado e bombas de vácuo), assim como todas as vidrarias necessárias, estavam disponíveis no LaCBio (QMC 303).

4.1.2. Instrumentação

4.1.2.1. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono– RMN ¹H e ¹³C

Os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C para os substratos sintetizados foram obtidos nos espectrofotômetros Buker AC 200 MHz e Varian AS-400 400 MHz, localizados na Central de Análises do DQ/UFSC. As amostras analisadas foram preparadas através da dissolução dos respectivos compostos em clorofórmio deuterado (CDCl₃) ou em dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d₆), da marca Sigma-Aldrich. Os deslocamentos químicos utilizaram como referência o padrão interno tetrametilsilano (TMS, $\delta=0,00$ ppm) ou o CDCl₃ (77,16 ppm), padrão para RMN de ¹³C.

4.1.2.2. Espectroscopia no infravermelho – IV

Os espectros na região do infravermelho para os compostos sintetizados foram gerados em um espectrofotômetro Perkin-Elmer FT-IR Spectrofotometer Spectrum 100, assentado no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia (LABINC) do DQ/UFSC, coordenado pelo Prof. Ademir Neves. Todos os espectros foram obtidos na região entre 4000 a 400 cm^{-1} . As amostras sólidas foram maceradas juntamente com brometo de potássio previamente seco.

4.1.2.3. Espectrometria de massas de alta resolução (HRMS)

Os espectros de massas de alta resolução (HRMS) foram obtidos a partir de um aparelho micrOTOF-Q II (Bruker Daltonics), do Centro de Biologia Molecular Estrutural (CEBIME), coordenado pelo Prof. Hernán Terenzi. O espectrômetro de massas foi operado em modo de íon positivo, com fonte de ionização APPI e ESI, utilizando diclorometano (CH_2Cl_2) como solvente.

4.1.2.4. Espectroscopia na região do UV-vis

Os espectros eletrônicos bem como as curvas de calibração para os compostos sintetizados e seus estudos cinéticos foram realizados através do método espectrofotométrico na região do UV-vis utilizando o espectrofotômetro UV-vis Varian Cary 50 Bio, disponível no LaCBio.

4.1.2.5. Espectrometria de fluorescência

Os espectros eletrônicos de fluorescência para os substratos sintetizados foram obtidos em um espectrofluorímetro Cary Eclipse da marca Varian, disponível no grupo de pesquisa LABINC do Departamento de Química, coordenado pelo Prof. Ademir Neves.

4.1.2.6. Ponto de fusão

As medidas de ponto de fusão foram realizadas em um aparelho da marca Microquímica, modelo MQAPF- 301, disponível no LacBio.

4.1.2.7. Titulação espectrofotométrica

Os valores das constantes de acidez (pK_a) para os substratos sintetizados foram determinados através do método espectrofotométrico na região do UV-visível no LaCBio. Para a determinação direta do pH da solução utilizou-se o pHmetro Expandle Ion Analyzer EA920 Orion Research e para a leitura do espectro eletrônico o Dip Probe Coupler 02-10159-00 Varian acoplado ao espectrofotômetro UV-vis Varian Cary 50 Bio.

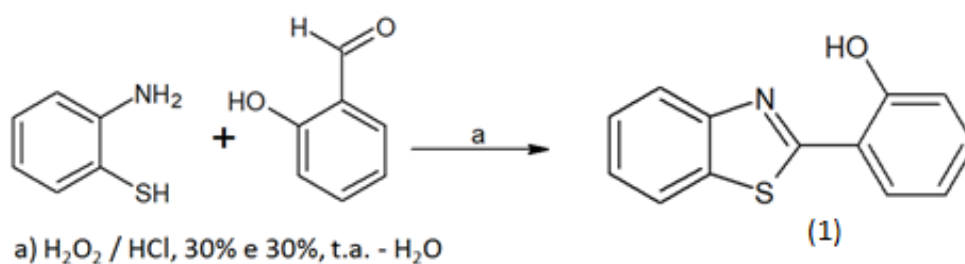
4.2. Procedimento experimental

4.2.1. *Síntese dos substratos modelos*

4.2.1.1. Síntese do 2-(2-hidroxifenil)-benzotiazol (1)

A síntese do 2-(2-hidroxifenil)-benzotiazol (2-HPBT) (MM = 127,27 g/mol) foi realizada conforme descrito na referência [46]. A preparação do 2-HPBT encontra-se descrita no Esquema 3.

Esquema 3. Preparação do 2-(2-hidroxifenil)-benzotiazol (1).



As quantidades utilizadas de cada reagente foram 4 vezes maiores que as descritas no artigo. Os reagentes 2-aminotiofenol (475,9 μ L; 4,0 mmol) e 2-hidroxibenzaldeído (421,6 μ L; 4,0 mmol) foram adicionados em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 30 mL de etanol equipado com agitação magnética a temperatura ambiente. Foram adicionadas soluções aquosas de H_2O_2 30% (1,88 mL; 24,0 mmol) e HCl 30% (1,23 mL; 12,0 mmol) ao balão e a mistura foi agitada. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada CCD (eluente: n-hexano/ EtOAc = 7:3 v/v). Com o consumo dos reagentes, a reação foi terminada com a adição de 40 mL de H_2O e extraída com EtOAc (2x30 mL). A parte orgânica foi separada e seca com $MgSO_4$ e o solvente rotaevaporado.

A seguir, o composto 2-(2-hidroxifenil)-benzotiazol (2-HPBT) já sem solvente, foi purificado por coluna cromatográfica em sílica gel (eluente: n-hexano/ EtOAc = 7:3 v/v). A caracterização do substrato **(1)** foi realizada por RMN de ^1H , espectroscopia no Infravermelho (IV) e ponto de fusão. A discussão dos dados espectrocópicos encontra-se no tópico Resultados e Discussão.

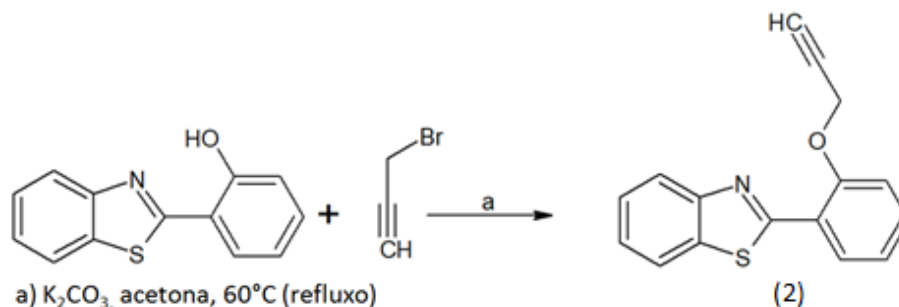
Rendimento: 87,9 %. **RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3):** δ (ppm) 6,96 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H); 7,11 (dd, $J = 7,3$ Hz e $J = 0,99$ Hz, 1H); 7,35 – 7,56 (m, 3H); 7,7 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H); 7,91 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H); 8,0 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H).

IV (KBr): ν (cm^{-1}) 3053 – 2921; 1723; 1587 e 1478; 1217; 971; 816; 722.

4.2.1.2. Síntese do 2-[2-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (2)

A síntese do 2-[2-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (2-PIPBT) (MM = 265,33 g/mol) foi realizada conforme descrito no artigo da literatura.⁴⁵ O esquema adaptado do procedimento experimental para a síntese do substrato 2-PIPBT encontra-se no Esquema 4.

Esquema 4. Preparação do 2-[2-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (**2**).



Os compostos 2-(2-hidroxifenil)-benzotiazol (0,2313 g; 1,018 mmol) e K_2CO_3 (0,6977 g; 5,12 mmol) foram colocados em um balão de fundo redondo de 3 bocas de 50 mL equipado com um sistema de refluxo, aquecimento e agitação magnética. Juntamente, foram adicionados 30 mL de acetona previamente seca com Na_2SO_4 anidro. A solução foi agitada a temperatura ambiente por 10 min.

Após 10 min, foram adicionados 0,43 mL de solução de brometo de propargila 80 % em benzeno (4 mmol). O sistema foi mantido sob agitação e aquecimento a 60°C por 16 h (overnight).

Com a reação completa, o solvente foi removido sob baixo vácuo e redissolvido em CHCl_3 . Em seguida, foi lavado 3 vezes com 10 mL de BRINE e a parte orgânica seca com Na_2SO_4 . Por final, tentou-se a recristalização em $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ gelado do composto 2-[4-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (2-PIPBT), e o solvente foi removido por evaporação. O sólido resultante foi analisado por RMN de ^1H , espectroscopia no Infravermelho (IV) e ponto de fusão.

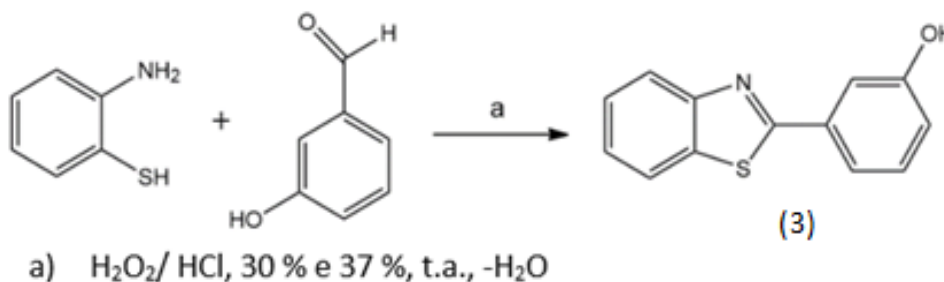
Rendimento: 79,9 %. **RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3):** δ (ppm) 2,60 (t, $J = 2,6$ Hz, 1H); 4,95 (d, $J = 2,4$ Hz, 2H); 7,15 – 7,23 (m, 2H); 7,30 – 7,38 (m, 1H); 7,44 – 7,51 (m, 2H); 7,94 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H); 8,1 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H); 8,54 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H).

IV (KBr): ν (cm^{-1}) 3231; 3063 – 2921; 2115; 1719; 1582 e 1455; 1215; 973; 816; 751.

4.2.1.3. Síntese do 2-(3-hidroxifenil)-benzotiazol (3)

A síntese do 2-(3-hidroxifenil)-benzotiazol (3-HPBT) ($\text{MM} = 227,27$ g/mol) foi executada conforme procedimento adaptado da literatura.⁴⁶ A preparação do 3-HPBT está mostrada no Esquema 5.

Esquema 5. Preparação do 2-(3-hidroxifenil)-benzotiazol (3).



Os reagentes 2-aminotiofenol (342 μL ; 2,87 mmol) e 3-hidroxibenzaldeído (0,3548; 2,88 mmol) foram adicionados em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 36 mL de etanol e equipado com agitação. Soluções aquosas de H_2O_2 30% (1,43 mL; 18,25 mmol) e HCl 30% (0,72 mL; 7,31 mmol) foram adicionadas ao balão e a mistura foi agitada a temperatura ambiente. Com o consumo dos materiais de partida, cerca de 45 min, a reação foi terminada com a adição de 40 mL de H_2O e extraída com EtOAc (2x30 mL). A parte orgânica foi separada e seca com MgSO_4 e o solvente rotaevaporado. O substrato foi purificado por cromatografia de coluna em

sílica gel (eluente: n-hexano/ EtOAc = 7:3 v/v) e caracterizado por RMN de ^1H , espectroscopia no infravermelho (IV) e ponto de fusão.

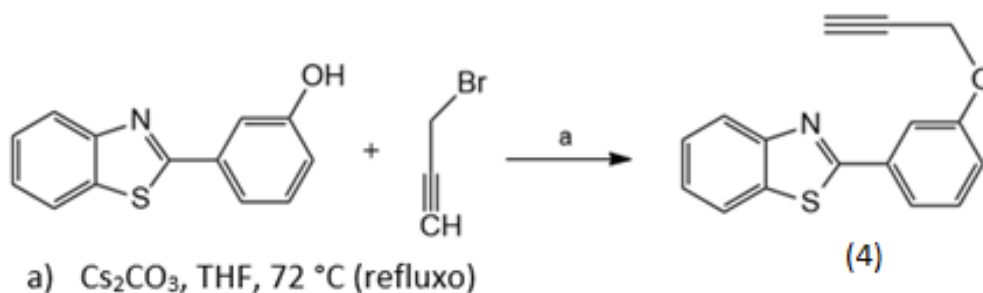
Rendimento: 86,5 %. **RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3):** δ (ppm) 6,98 – 7,03 (m, 1H); 7,34 – 7,66 (m, 5H); 7,92 (d, J = 8,2 Hz, 1H); 8,9 (d, J = 7,6 Hz, 1H).

IV (KBr): ν (cm^{-1}) 3081 – 2920; 1722; 1594 e 1437; 1237; 992; 817; 752.

4.2.1.4. Síntese do 2-[3-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (4)

O composto 2-[3-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (3-PIPBT) (MM = 265,33 g/mol) foi sintetizado baseado no procedimento descrito anteriormente, e sua preparação é mostrada no Esquema 6.

Esquema 6. Preparação do 2-[3-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (4).



Os compostos 2-(3-hidroxifenil)-benzotiazol (0,1172 g; 0,51 mmol) e Cs_2CO_3 (0,41 g; 1,2 mmol) foram adicionados em um balão de fundo redondo de 50 mL equipado com um sistema de refluxo, aquecimento e agitação magnética, contendo 15 mL de THF previamente seco. O sistema reacional foi mantido sob atmosfera de N_2 e agitado por 10 min a temperatura ambiente. Em seguida, foram adicionados 0,40 mL de solução 80% de brometo de propargila em benzeno (2,33 mmol) e a solução agitada e aquecida a 72°C por um período de 16 h.

Com o fim da reação, o solvente foi rotaevaporado. O substrato foi redissolvido em CHCl_3 e lavado 3 vezes com 10 mL de BRINE. A fração orgânica foi seca com Na_2SO_4 e realizou-se a recristalização do composto 3-PIPBT em EtOAc e hexano quente. O sólido resultante foi analisado por RMN de ^1H , espectroscopia no infravermelho (IV) e ponto de fusão.

Rendimento: 34,8 %. **RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3):** δ (ppm) 2,58 (t, $J = 2,4$ Hz, 1H); 4,82 (d, $J = 2,7$ Hz, 2H); 7,10 – 7,15 (m, 1H); 7,37 – 7,55 (m, 3H); 7,70 – 7,74 (m, 2H); 7,92 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H); 8,09 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H).

RMN de ^{13}C (200 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 56,2; 76,0; 78,3; 113,6; 118,1; 121,2; 121,8; 123,5; 125,4; 126,5; 130,2; 135,1; 135,2; 154,2; 158,2; 167,8.

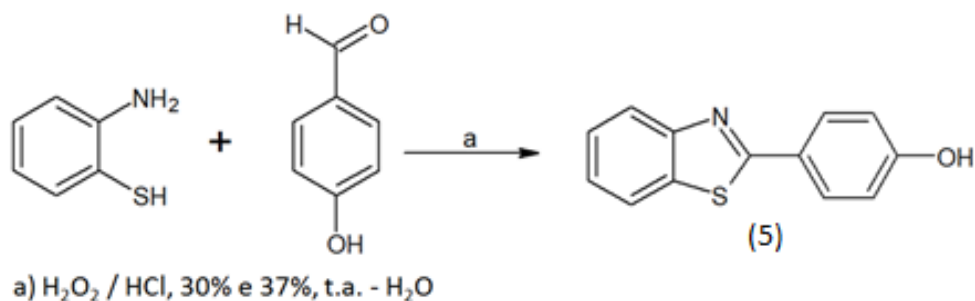
HRMS (APPI): m/z calculado 266,0561; m/z encontrado 266,0634.

IV (KBr): ν (cm^{-1}) 3210; 2964 – 2875; 2112; 1722; 1594 e 1432; 1259; 998; 795; 758.

4.2.1.5. Síntese do 2-(4-hidroxifenil)-benzotiazol (5)

A síntese do 2-(4-hidroxifenil)-benzotiazol (4-HPBT) ($\text{MM} = 227,27$ g/mol) foi realizada conforme descrito na literatura⁴⁶ e o procedimento geral para a reação do 4-HPBT encontra-se no Esquema 7 na página seguinte.

Esquema 7. Preparação do 2-(4-hidroxifenil)-benzotiazol (5).



Em um balão de fundo redondo de 25 mL e com duas bocas, equipado com agitação magnética foram adicionados o 2-aminotiofenol (118,9 μL ; 1,0 mmol) e o 4-hidroxibenzaldeído (0,123 g; 1,0 mmol) em 10 mL de etanol. Em seguida adicionou-se uma solução aquosa de H_2O_2 30% (0,47 mL; 6,0 mmol) e uma solução de HCl 37% (0,25 mL; 3,0 mmol). A mistura resultante foi agitada a temperatura ambiente. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada CCD (eluente: n-hexano/ $\text{EtOAc} = 7:3$ v/v). Após o completo consumo dos materiais de partida, a reação foi cessada adicionando-se 10 mL de H_2O e extraída com EtOAc (2x10 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO_4 . O produto 2-(4-hidroxifenil)-benzotiazol (4-HPBT) foi obtido após remoção do solvente e purificado com cromatografia de coluna em sílica gel (eluente: n-hexano/ $\text{EtOAc} = 7:3$ v/v). A caracterização do substrato foi realizada por RMN de ^1H e infravermelho (IV).

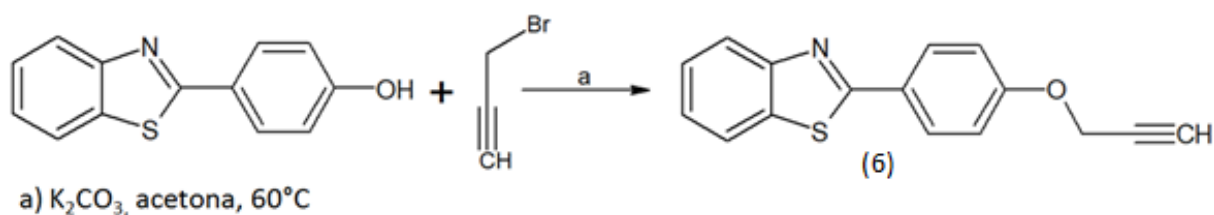
Rendimento: 44,5 %. **RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3):** δ (ppm) 6,92 - 6,96 (m, 2H); 7,36 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H); 7,48 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H); 7,9 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H); 7,97 - 8,05 (m, 3H).

IV (KBr): ν (cm^{-1}) 3050 - 2924; 1717; 1600 e 1425; 1222; 976; 826; 755.

4.2.1.6. Síntese do 2-[4-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (6)

A síntese do 2-[4-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (4-PIPBT) ($\text{MM} = 265,33$ g/mol) foi baseada na reação descrita no artigo da referência.⁴⁵ O procedimento geral adaptado da literatura para a preparação do 4-PIPBT é mostrado no Esquema 8.

Esquema 8. Preparação do 2-[4-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (6).



A mistura dos compostos 2-(4-hidroxifenil)-benzotiazol (4-HPBT) (0,2122 g; 0,93 mmol) e K_2CO_3 (0,60 g; 4,40 mmol) foi adicionada a um balão de 50 mL com 25 mL de acetona previamente seca. O sistema foi agitado por 10 min a temperatura ambiente. Em seguida adicionou-se o brometo de propargila (80%) em benzeno (0,379 mL; 3,52 mmol). A mistura resultante foi agitada a 60°C por um período de mais de 12 h (overnight). Após o final da reação o solvente foi removido sob vácuo. O composto resultante foi dissolvido em 10 mL de CHCl_3 e lavado com BRINE e H_2O (3x5 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO_4 e o solvente rotaevaporado. O resíduo resultante foi recristalizado com $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ gelado para obtenção do composto 2-[4-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (4-PIPBT). A caracterização do substrato **(6)** foi realizada por RMN de ^1H , espectroscopia no infravermelho (IV) e ponto de fusão, e a sua discussão encontra-se no tópico Resultados e Discussão.

Rendimento: 23,2 %. **RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3):** δ (ppm) 2,58 (t, $J = 2,2$ Hz, 1H); 4,78 (d, $J = 2,4$ Hz, 2H); 7,08 - 7,12 (m, 2H); 7,37 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H); 7,49 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H); 7,9 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H); 8,03 - 8,09 (m, 3H).

IV (KBr): ν (cm^{-1}) 3278; 3062 - 2857; 2132; 1735; 1601 e 1478; 1259; 1014; 840; 754.

4.3. Segurança no laboratório e tratamento de resíduos

Todos os experimentos e reações foram realizados por uma pessoa capacitada utilizando o equipamento de proteção individual (EPI) adequado. As condutas tomadas durante os processos realizados no laboratório seguiram as normas internas do LaCBio e do Manual de Regras Básicas de Segurança para Laboratórios de Química do Departamento de Química da UFSC. Os procedimentos de síntese, extração e purificação foram conduzidos visando o menor consumo de reagentes e solventes possível, baseando-se nos princípios gerais da química verde de diminuição e redução de resíduos gerados em laboratórios de pesquisa. Os solventes utilizados na purificação foram destilados e purificados conforme procedimentos da literatura, para reutilização em processos de lavagem e extração. Os resíduos gerados durante todas as etapas desse trabalho foram separados conforme seu grau de periculosidade e classe química (aquosos, aquosos contendo metais, orgânicos, orgânicos halogenados) e acondicionados em recipientes adequados e devidamente identificados para a recolha por profissionais especializados da empresa PROACTIVA MEIO AMBIENTE BRASIL S.A., para posterior tratamento. Levou-se em consideração a menor geração de resíduo possível com o uso consciente dos reagentes e a troca de substâncias conhecidamente perigosas por outras com menor grau de toxicidade e periculosidade. Outros materiais contaminados, como luvas, seringas e ponteiros foram descartados em embalagens apropriadas e recolhidos pela mesma empresa acima citada.

4.4. Determinação dos espectros eletrônicos no UV-vis

Os espectros de absorção na região do UV-vis dos substratos sintetizados foram obtidos realizando-se leituras de absorbância em diferentes concentrações. Ao todo foram realizadas medições em 6 concentrações diferentes para a construção da curva de calibração, mantendo a concentração constante de DMSO em 5%, e o pH da solução em 11,0 (tampão $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ 0,02 mol L⁻¹) para o substrato 2-HPBT, e em 7,42 (tampão $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 0,02 mol L⁻¹) para os demais compostos. Todas as medidas foram realizadas em duplicata. As concentrações de cada substrato foram ajustadas para um volume de 3 mL (cubeta) a partir de uma solução estoque de 0,001

mol L⁻¹ em DMSO. Os volumes utilizados de cada componente estão mostrados na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1. Volumes utilizados na determinação da curva de calibração dos substratos (1 a 6).

C (10⁻² mmol L⁻¹)	V_{Substrato} (μL)	V_{DMSO} (μL)
1,50	45	105
2,00	60	90
2,50	75	75
3,00	90	60
3,50	105	45
4,00	120	30

Obs.: O volume de tampão utilizado para todas concentrações foi de 2,85 mL.

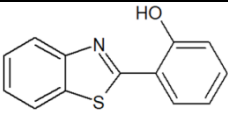
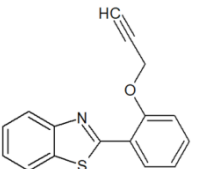
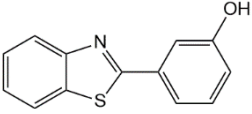
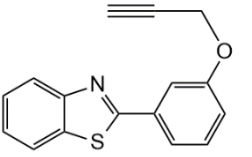
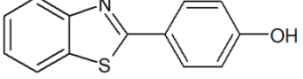
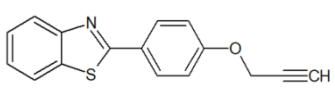
Todos os espectros obtidos bem como as curvas de calibração serão mostrados nos Resultados e Discussão, item 5.2, página 47.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Síntese e caracterização dos substratos

A caracterização dos seis substratos sintetizados (**1** a **6**) foi realizada através da espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio RMN ^1H , de região do infravermelho (IV) e também pela determinação do ponto de fusão dos compostos. A análise dos espectros de RMN de ^1H e de IV será descrita nos tópicos 5.1.1 e 5.1.3. Primeiramente, na Tabela 2 são apresentados os valores de ponto de fusão para cada substrato, bem como o rendimento e o tempo de reação. Os valores encontrados de ponto de fusão para cada um dos substratos foram comparados com os já relatados na literatura. A pequena divergência em alguns valores pode ser devida a resquícios de solvente e impurezas bem como à taxa de aquecimento.

Tabela 2. Compilação dos dados obtidos na síntese dos substratos.

Sigla (Número)	Estrutura	Tempo de reação (min)	Rendimento (%)	p.f. (°C)	p.f. teórico (°C)
2-HPBT (1)		45	87,9 ^a	125 - 130	130 - 131 ^c
2-PIBPT (2)		overnight	79,9 ^b	61 - 63	66 - 68 ^f
3-HPBT (3)		45	86,5 ^a	159 - 160	159 - 160 ^g
3-PIBPT (4)		overnight	34,8 ^b	69 - 70	-
4-HPBT (5)		45	44,5 ^a	220 - 221	220 - 221 ^c
4-PIBPT (6)		overnight	23,2 ^b	117 - 120	131 - 132 ^d

^aRendimento refere-se ao produto isolado puro. ^bRendimento refere-se ao produto recristalizado.

^cStevens, M. F. G.; McCall, C. J.; Lelieveld, P. A. P.; Richter, A.; Davies, D. E. J. *Med. Chem.* **1994**, 37, 1689. [47]

^dSharghi, H.; Aberi, M.; Doroodmand, M. M.; *J Iran Chem. Soc.* **2012**, 9:189-204. [48]

^eKatkar, Santosh S.; *Chinese Chemical Letters*, **2010**, V21(4), P421-425 CAPLUS. [49]

^fKumar, M.; Kumar, N.; Bhalla, V.; *RSC Advances*, **2013**, 3, 1097. [45]

^gWeekes, A. A.; Dix, M. C.; Bagley, M. C.; Westwell, A. D.; *Synth. Comm.*, **2010**, vol. 40, # 20, p. 3027 - 3032. [50]

Para a discussão dos rendimentos deve se levar em conta o procedimento experimental e o método de purificação. Para os compostos 2-HPBT, 3-HPBT e 4-HPBT, a purificação foi pela cromatografia em coluna de sílica gel. Comparando-se os rendimentos, observam-se valores próximos para os substratos *orto* e *meta*-substituídos. O rendimento mais baixo para o substrato 4-HPBT (44,5%) é devido a perdas durante o processo de purificação por coluna, uma vez que o empacotamento da mesma foi conduzido de forma errônea, o que causou a mistura dos compostos no final da separação.

Os compostos 2-PIPBT e 4-PIPBT tiveram o mesmo processo de purificação, ou seja, a recristalização. É necessário notar, todavia, que para a síntese do substrato 4-PIPBT não foi utilizado o sistema de refluxo, sendo o rendimento bastante baixo, uma vez que com aquecimento todo o solvente evaporou durante o período prolongado da reação. Com o uso do refluxo, o rendimento elevou-se para aproximadamente 80% para o 2-PIPBT.

É necessário ressaltar que o substrato 3-PIPBT (**4**) é inédito, ou seja, não há relatos de métodos de síntese reportados na literatura. Esse substrato foi sintetizado adaptando-se os procedimentos já conhecidos. Inicialmente foi testada a propargilação do mesmo modo que já havia sido feito para os substratos 2-PIPBT e 4-PIPBT (K_2CO_3 , acetona seca e sistema de refluxo (60 °C)). Ocorre, todavia, que não foi observada a formação do composto de interesse. Dessa forma, devido o substrato 3-HPBT apresentar um maior grau de basicidade (posição *meta*), optou-se por utilizar condições mais severas. Utilizou-se como base o carbonato de cério (Cs_2CO_3) e como solvente THF seco. O sistema reacional foi mantido sob atmosfera inerte de N_2 para evitar a presença de umidade. A temperatura de refluxo também foi aumentada para 72 °C e o tempo reacional mantido por um período de 16 h. Sob tais condições foi possível obter o respectivo substrato que foi purificado por recristalização e caracterizado por diversas técnicas, como RMN 1H e ^{13}C , IV, HRMS e ponto de fusão.

5.1.1. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de 1H

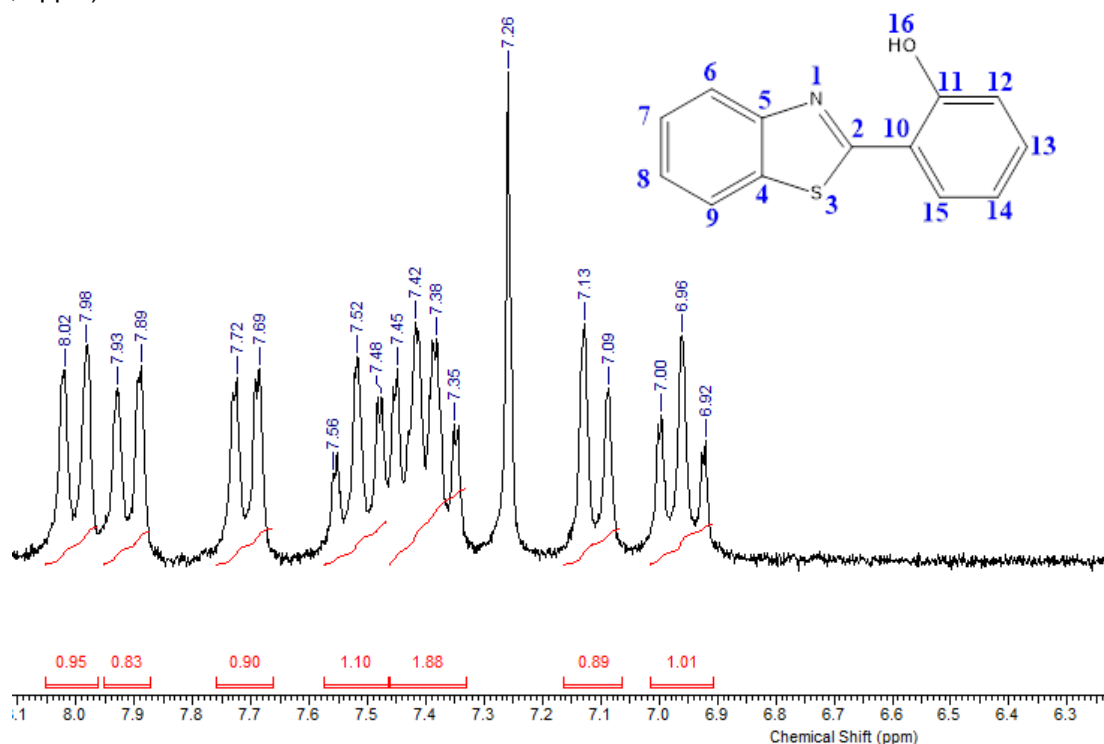
Nos espectros de RMN 1H descritos a seguir são apresentados os valores de deslocamentos químicos e atribuições dos picos registrados para os éteres aromáticos sintetizados. As proporções de prótons obtidas nos espectros de RMN de 1H são coerentes com o número total de hidrogênios esperados para cada substrato.

5.1.1.1. Caracterização dos substratos 2-HPBT, 3-HPBT e 4-HPBT

A síntese dos substratos precursores para a reação de propargilação mostrou-se satisfatória tendo como produto, três substratos devidamente purificados e caracterizados. A caracterização dos substratos **1**, **3** e **5** foi por espectroscopia de RMN de ^1H e será discutida a seguir.

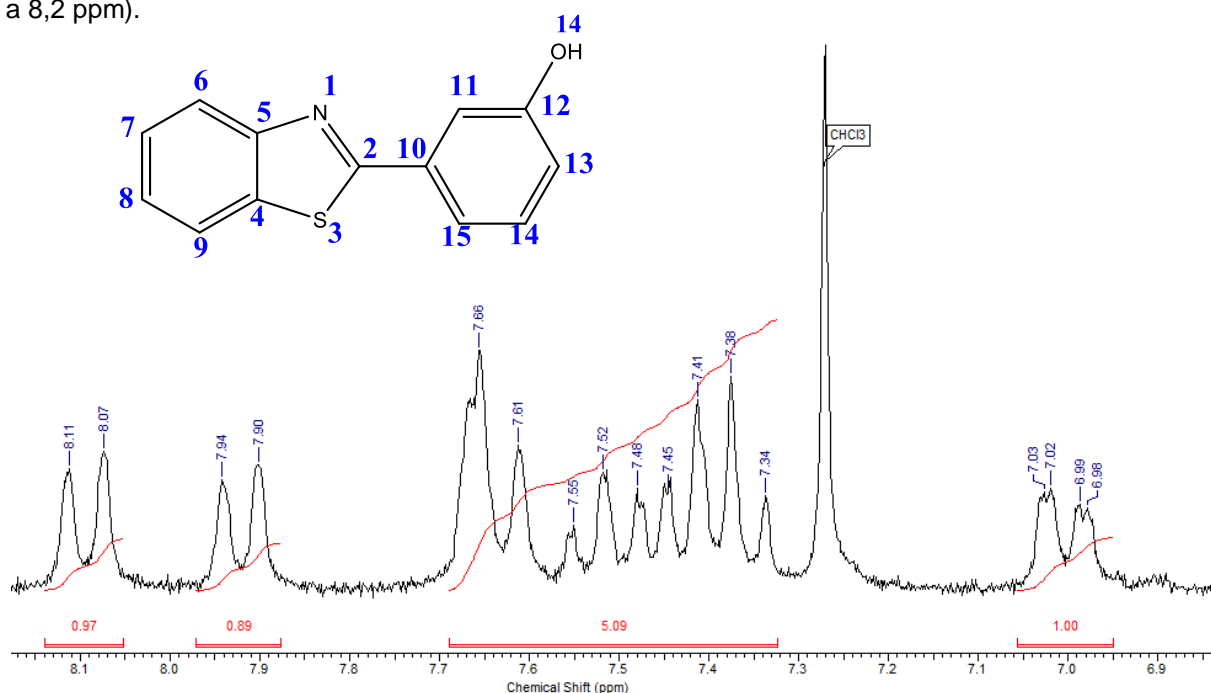
O substrato 2-HPBT (**1**) foi obtido como um sólido cristalino marrom (0,799 g; 3,51 mmol; 87,9 %) e apresentou os seguintes sinais no espectro de RMN ^1H 200 MHz em CDCl_3 . Foi observado um tripleto com $J = 7,3$ Hz em 6,96 ppm referente ao hidrogênio 14 do anel aromático. Em 7,11 ppm verifica-se um duplo duplete ($J = 7,3$ Hz e $J = 0,99$ Hz) de integral relativa igual a um, referente ao hidrogênio 12. Localizado entre 7,36 e 7,46 ppm nota-se um multipeto referente a dois hidrogênios do anel aromático (7 e 13). Entre 7,48 e 7,56 ppm encontra-se um multipeto de integral um, referente ao hidrogênio 8. A presença de um duplete entre 7,69 e 7,73 ppm, com constante de acoplamento $J = 7,8$ Hz, refere-se ao hidrogênio 15. Outros dois dupletos podem ser observados entre 7,90 a 7,93 ppm e 7,98 a 8,02 ppm, com $J = 8,0$ Hz e $J = 7,8$ Hz, respectivamente, referentes aos hidrogênios 9 e 6. O espectro do 2-(2-hidroxifenil)-benzotiazol é mostrado na Figura 5.

Figura 5. Espectro de RMN ^1H para o substrato 2-HPBT em CDCl_3 (200 MHz, região expandida de 6,2 a 8,1 ppm).



O substrato 3-HPBT (**3**) foi obtido como um sólido cristalino avermelhado (0,5671 g; 2,5 mmol; 86,5 %). Na Figura 6 observa-se o espectro de RMN de ^1H em CDCl_3 obtido em 200 MHz. A atribuição dos sinais presentes no espectro é descrita a seguir. Foi observado um multipletto entre 6,98 e 7,03 ppm referente ao hidrogênio 13 do grupo fenil. Pode-se observar um multipletto entre 7,34 e 7,66 ppm de integral igual a 5, referente aos hidrogênios 7, 8, 11, 14 e 15 dos anéis aromáticos. Dois dupletos são observados entre 7,90 e 8,11 ppm. O primeiro em 7,92 ppm de constante de acoplamento $J = 8,2$ Hz foi atribuído ao hidrogênio 9. O segundo dupletto, com $J = 7,6$ Hz, em 8,09 ppm está relacionado ao hidrogênio 6, mais desblindado devido à proximidade com o nitrogênio do grupo benzotiazol.⁵¹

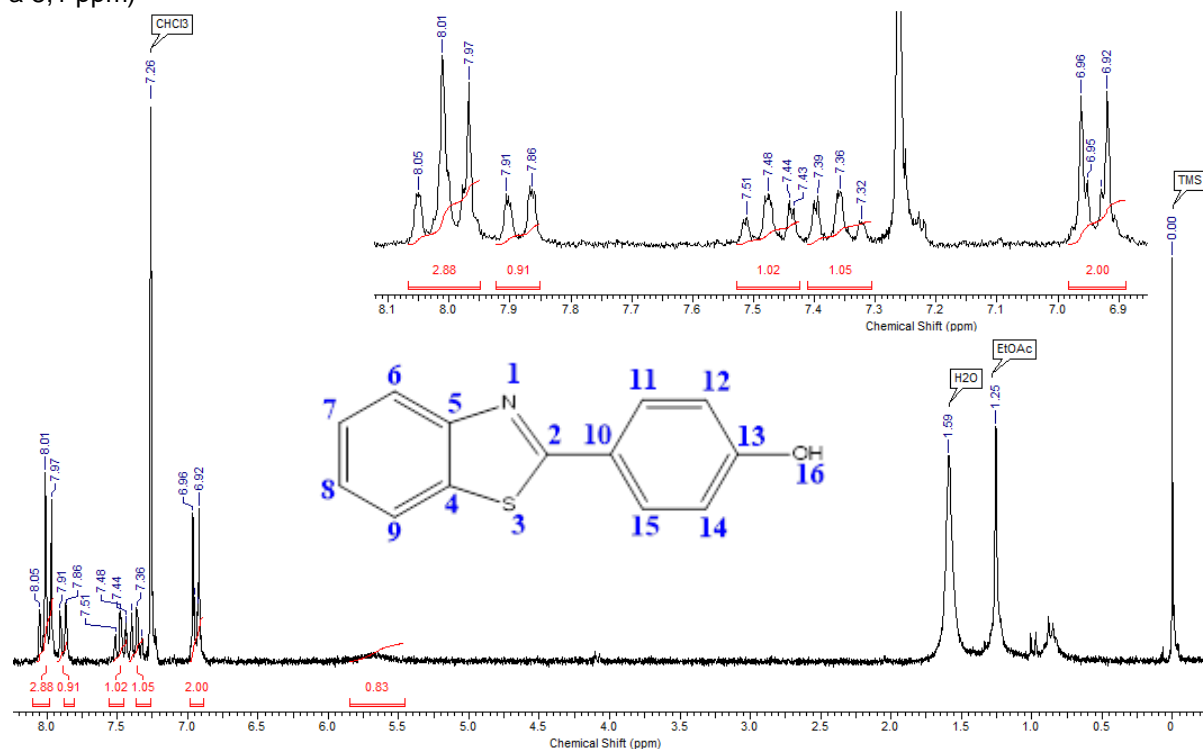
Figura 6. Espectro de RMN ^1H para o substrato 3-HPBT em CDCl_3 (200 MHz, região expandida de 6,8 a 8,2 ppm).



O substrato 4-HPBT (**5**) foi obtido como um sólido cristalino alaranjado (0,102 g; 0,45 mmol; 44,5 %). No espectro de RMN ^1H em CDCl_3 (Figura 7) pode-se observar em 6,92 e 6,96 ppm um multipletto referente aos hidrogênios 12 e 14. Em 7,36 ppm, tem-se um triplete com $J = 6,9$ Hz de integral relativa igual a um referente ao hidrogênio 8. O hidrogênio 7 apresenta-se como um triplete com constante de acoplamento $J = 6,8$ Hz, em 7,48 ppm. Observa-se um dupletto de constante de acoplamento $J = 8,8$ Hz em 7,9 ppm referente ao hidrogênio 6. Os outros três

hidrogênios 9, 11 e 15 são observados como um multiplete entre 7,97 e 8,05 ppm. O hidrogênio da hidroxila (16) é observado como um sinal fraco e alargado em 5,66 ppm.

Figura 7. Espectro de RMN ^1H para o substrato 4-HPBT em CDCl_3 (200 MHz, região expandida de 6,8 a 8,1 ppm)



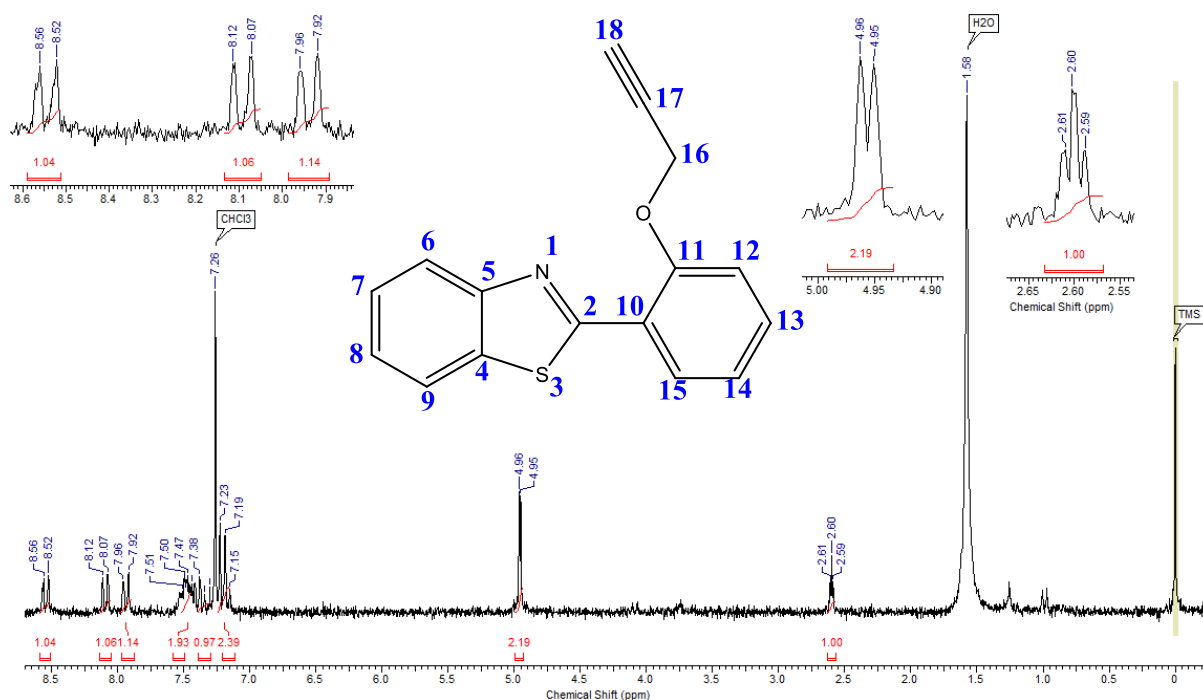
5.1.1.2. Caracterização dos substratos 2-PIPBT, 3-PIPBT e 4-PIPBT

Os substratos propargílicos sintetizados a partir do procedimento descrito anteriormente, foram obtidos com grau de pureza adequado para a utilização destes como modelos para as reações de O-despropargilação e sua caracterização por ressonância magnética nuclear de ^1H será discutida a seguir.

O produto 2-PIPBT (**2**) foi obtido como um sólido cristalino amarelo claro (0,216 g; 0,81 mmol; 79,9%) e confirmado por RMN ^1H , pela presença de um tripleto em 2,60 ppm, com $J = 2,6$ Hz, referente ao hidrogênio acetilênico (18) e um duplete em 4,95 ppm, com $J = 2,4$ Hz, referente aos dois hidrogênios alquínílicos (16). No espectro da Figura 8, também podem ser vistos os picos referentes aos hidrogênios 12 e 14 como um multiplete entre 7,15 e 7,23 ppm. Entre 7,30 e 7,38 ppm, observa-se um multiplete referente ao hidrogênio 8. Os hidrogênios 7 e 13 apresentam um multiplete em 7,44 e 7,51 ppm. Em 7,94 ppm nota-se um duplete, com $J = 8,2$ Hz, referente ao hidrogênio

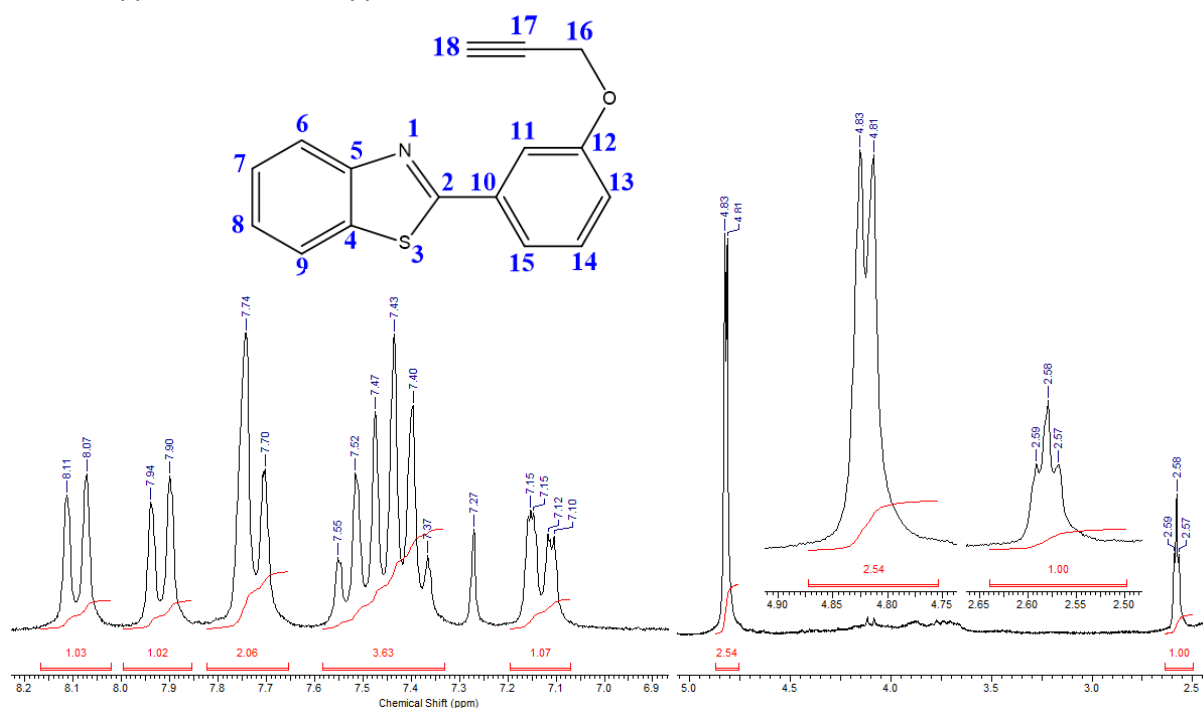
15. Outros dois dupletos podem ser observados em 8,1 ppm, com $J = 7,7$ Hz, e em 8,54 ppm, com $J = 7,9$ Hz, referentes aos hidrogênios 9 e 6, respectivamente.

Figura 8. Espectro de RMN ^1H para o substrato 2-PIPBT em CDCl_3 (200 MHz, regiões expandidas de 2,55 a 2,85 ppm; de 4,90 a 5,00 ppm e de 7,90 a 8,60 ppm).



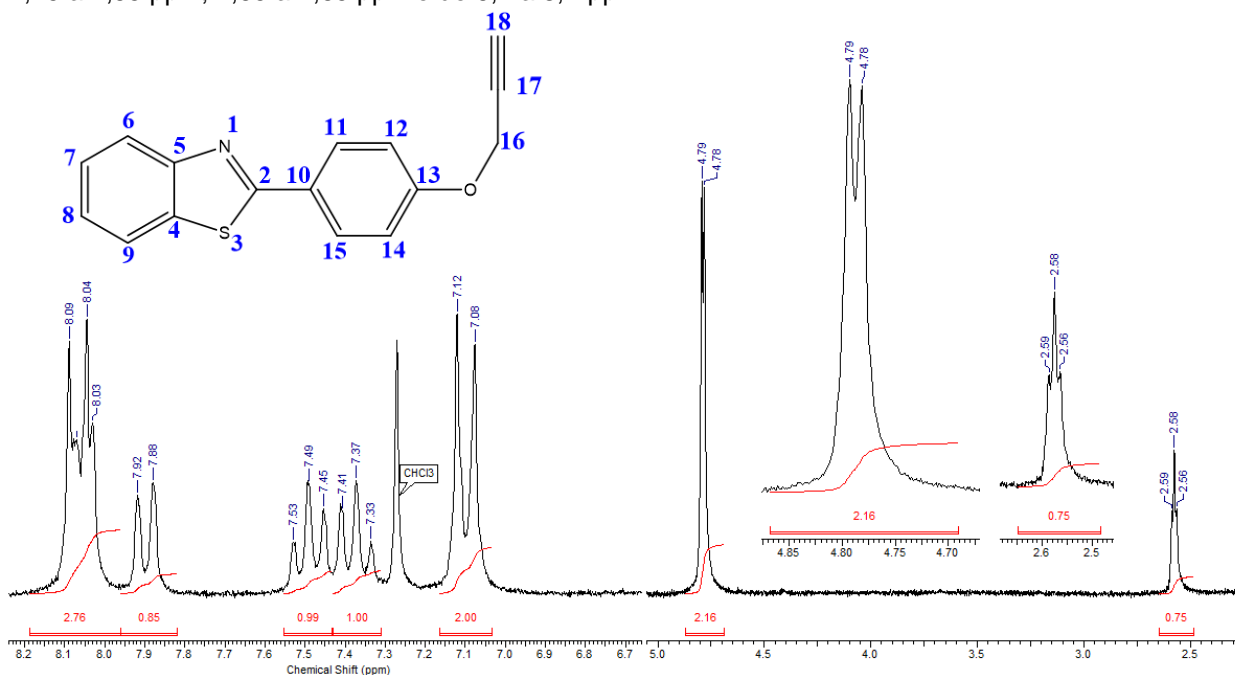
O substrato 3-PIPBT (**4**) foi obtido como um sólido amarelado (0,0471 g; 0,177 mmol; 34,8 %). O espectro de RMN ^1H em CDCl_3 do substrato propargilado pode ser visto na Figura 9. O grupo propargil é confirmado pela presença de um tripleto em 2,58 ppm, com $J = 2,43$ Hz, referente ao hidrogênio terminal do alcino (18) e um duplete entre 4,81 e 4,83 ppm, com $J = 2,66$ Hz, referente aos hidrogênios alquínílicos (16). O hidrogênio 13 é observado como um multipeto entre 7,10 e 7,15 ppm. O multipeto entre 7,37 e 7,55 ppm, de integral relativa três é atribuído aos hidrogênios 11, 14 e 15. Um terceiro multipeto observado entre 7,70 e 7,74 ppm, é relativo aos hidrogênios 7 e 8. Observam-se ainda dois dupletos entre 7,90 e 7,94 ppm e entre 8,07 e 8,11 ppm, com constante de acoplamento $J = 8,2$ Hz e $J = 8,1$ Hz, respectivamente, referente aos hidrogênios 9 e 6.

Figura 9. Espectro de RMN ^1H para o substrato 3-PIPBT em CDCl_3 (200 MHz, na região expandida de 2,5 a 5,0 ppm e de 6,9 a 8,2 ppm).



O substrato 4-PIPBT (**6**) foi obtido como um sólido branco cristalino (0,0573 g; 0,216 mmol; 23,2 %). A caracterização por RMN ^1H (200 MHz) em CDCl_3 do substrato propargilado foi confirmada com a presença de um tripleto em 2,58 ppm, com $J = 2,22$ Hz, referente ao hidrogênio acetilênico (18) e um duplete em 4,78 e 4,79 ppm, com $J = 2,44$ Hz, referente aos hidrogênios alquínílicos (16). Os demais hidrogênios são observados como um multiplete entre 7,08 e 7,12 ppm, referente aos dois hidrogênios 12 e 14. Um tripleto com $J = 7,69$ Hz em 7,37 ppm e um tripleto com $J = 7,2$ Hz em 7,49 ppm, de integrais relativas iguais são referentes a cada um dos dois hidrogênios 8 e 7, respectivamente. Um duplete é observado em 7,90 ppm, com constante de acoplamento $J = 7,61$ Hz, referente ao hidrogênio 9. O multiplete entre 8,03 e 8,09 ppm de integral relativa igual a três é referente aos hidrogênios 6, 11 e 15 do substrato (**6**). O espectro de RMN ^1H do substrato 4-PIPBT obtido em CDCl_3 (200 MHz) é mostrado na Figura 10.

Figura 10. Espectro de RMN ^1H para o substrato 4-PIPBT em CDCl_3 (200 MHz, região expandida de 2,45 a 2,65 ppm; 4,65 a 4,85 ppm e de 6,7 a 8,2 ppm)



5.1.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^{13}C e espectroscopia de massas de alta resolução (HRMS)

Nos espectros de RMN ^{13}C descritos a seguir são apresentados os valores de deslocamentos químicos e atribuições dos picos registrados para o composto inétido sintetizado 2-[3-(2-propino-1-iloxi)fenil]-benzotiazol (**4**). Juntamente será apresentada a análise de espectroscopia de massas de alta resolução para o mesmo composto.

Pela análise dos espectros de RMN ^{13}C (Figura 11), foi possível perceber em 56,22 ppm, o sinal referente ao carbono CH_2 vizinho ao alcino terminal (16). Em 76,06 ppm, temos o pico referente ao carbono CH do grupamento propargil (18) e em 78,34 ppm observa-se o pico referente ao carbono quaternário desse mesmo grupo (17). Os demais carbonos CH presentes nos anéis aromáticos do substrato sintetizado são observados entre 113,63 e 130,24 ppm, sendo que o pico em 113,63 ppm refere-se ao carbono 11; o pico em 121,16 ppm ao carbono 9; o pico em 121,75 ppm ao carbono 5; o pico em 123,45 ppm ao carbono 8; o pico em 125,42 ppm ao carbono 7; o pico em 126,48 ppm ao carbono 15; e o pico em 130,24 ppm ao carbono 14. Todos esses sinais também são confirmados pelo espectro de DEPT-135 (Figura 12) para esse substrato, observando-se um sinal negativo referente ao carbono CH_2 e os demais sinais positivos relacionados aos carbonos CH em seus respectivos deslocamentos.

Os carbonos quaternários da molécula são observados no espectro de RMN ^{13}C (Figura 11) em deslocamentos bem característicos. Entre 135,13 e 135,25 ppm observam-se dois picos próximos referentes aos carbonos 10 e 4, que possuem a mesma distância de ligação em relação ao nitrogênio do grupo benzotiazol. Em 154,20 ppm há a presença do pico do carbono 12 ligado ao oxigênio do éter. O carbono 5 ligado diretamente ao nitrogênio aparece como um pico em 158,15 ppm. Já o carbono mais desblindado (2) devido a proximidade com os elementos nitrogênio e enxofre do benzotiazol apresenta um pico em 167,76 ppm. Nenhum desses carbonos é observado no espectro de DEPT-135 (Figura 12), conforme esperado, confirmando a estrutura do substrato 3-PIPBT.

Figura 11. Espectro de RMN ^{13}C na região de 50,0 a 170,0 ppm para o substrato 3-PIPBT em CDCl_3 (200 MHz).

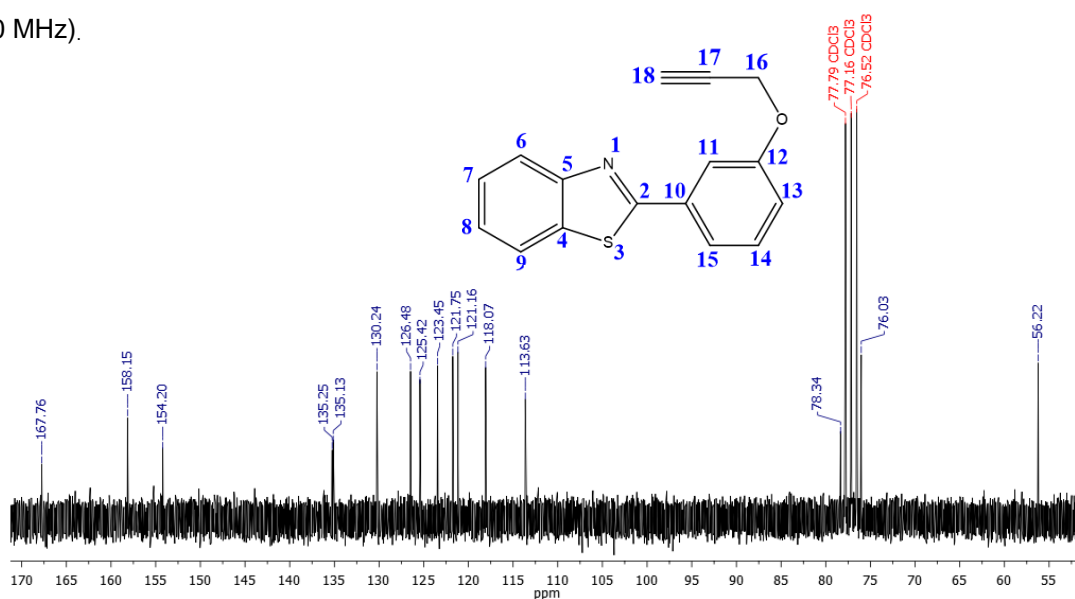
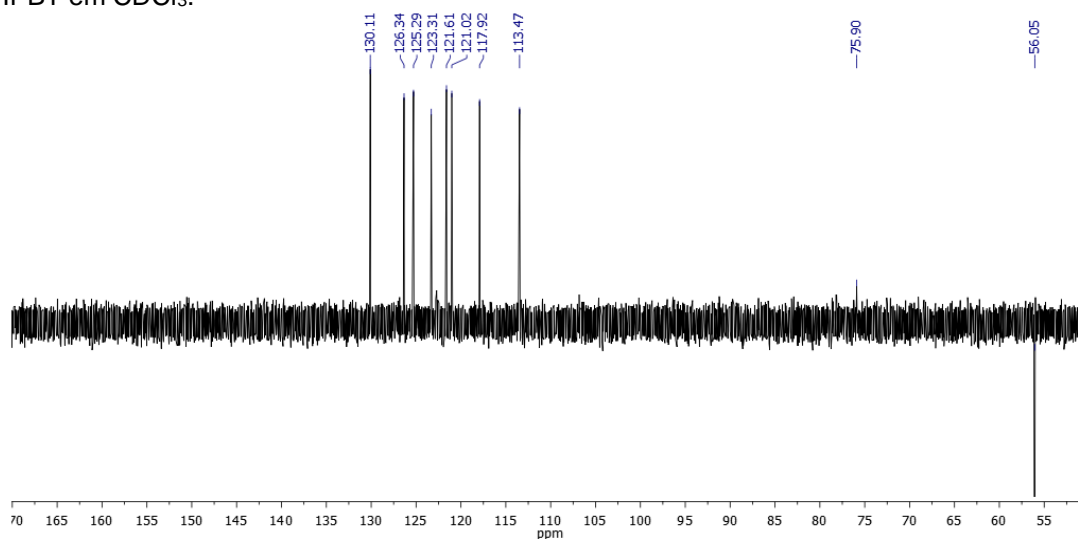
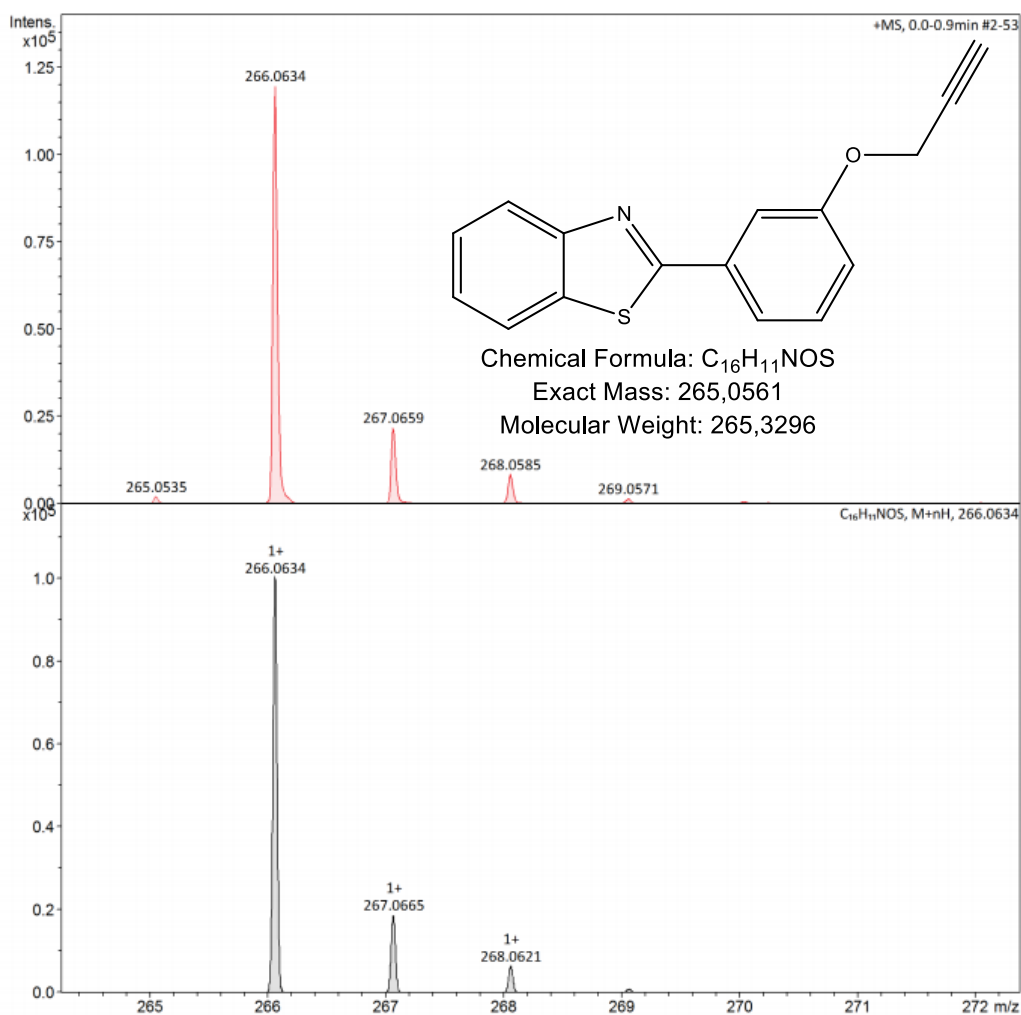


Figura 12. Espectro de RMN de DEPT-135 (200 MHz) na região de 50,0 a 170,0 ppm para o substrato 3-PIPBT em CDCl_3 .



O substrato 3-PIPBT (**4**) também foi caracterizado por espectrometria de massas de alta resolução, onde foi utilizado uma fonte de ionização APPI positivo com m/z calculado para $C_{16}H_{11}NOS$ $[M+H]^+$ em 266,0561 que coincide com o m/z encontrado de 266,0634 confirmando a estrutura do composto (**4**). O espectro de massas de alta resolução obtido é mostrado na Figura 13, juntamente com o espectro predito.

Figura 13. Espectroscopia de massas de alta resolução do composto 3-PIPBT (**4**) utilizando fonte de ionização APPI.



Todos os substratos também foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho. A confirmação da obtenção dos produtos foi confirmada pela presença de bandas características dos estiramentos presentes no anel, referentes as ligações (C=N), (C=C) e (C-N). Além das bandas características de C-H de aromáticos e alifáticos. A discussão e atribuição das bandas no IV será realizada a seguir.

5.1.3. Espectroscopia vibracional no infravermelho

5.1.3.1. Caracterização dos substratos 2-HPBT, 3-HPBT e 4-HPBT

A Tabela 3 apresenta as principais bandas e atribuições obtidas na espectroscopia de infravermelho dos substratos sintetizados 2-HPBT, 3-HPBT e 4-HPBT. As atribuições foram realizadas conforme descrito em Silverstein *et al.*⁵¹ e comparadas com valores já encontrados na literatura.

Tabela 3. Atribuição para as principais bandas de absorção na região do IV (cm^{-1}) obtidas para os substratos 2-HPBT, 3-HPBT e 4-HPBT.^a

Atribuições	2-HPBT	3-HPBT	4-HPBT
ν (C-H _{ar} e C-H _{alif})	3053 – 2921	3081 – 2920	3050 - 2924
ν (C=N)	1723	1722	1717
ν (C=C)	1587 e 1478	1594 e 1437	1600 e 1425
ν (C-N)	1217	1237	1222
ν (-CH=CH-)	971	992	976
ν (Anel aromático)	816	817	826
ν (Anel aromático)	722	752	755

^aEspectros obtidos em pastilha de KBr.

Observa-se na Tabela 3 a presença de bandas características para as deformações axiais de C-H de aromáticos e alifáticos ($\sim 2900 - 3100 \text{ cm}^{-1}$). A presença de uma banda deslocada entre 1717 e 1723 cm^{-1} para os substratos, caracteriza uma deformação axial de iminas do anel aromático benzotiazol (C=N), análogas as carbonilas entre 1615 e 1700 cm^{-1} . A banda de deformação angular no plano de C-H (CH=CH) é observada entre 1000 e 1300 cm^{-1} , estando um pouco deslocada nos substratos sintetizados. Notam-se ainda bandas características das deformações axiais C=C do anel aromático entre 1500 e 1400 cm^{-1} e 1585 e 1600 cm^{-1} . As deformações em fase fora do plano dos átomos de hidrogênio adjacentes do anel aromático apresentam bandas intensas e são observadas entre 675 e 900 cm^{-1} .

Os espectros de IV para os substratos 2-HPBT, 3-HPBT e 4-HPBT serão mostrados no Apêndice, juntamente com os espectros de seus respectivos produtos propargilados 2-PIPBT, 3-PIPBT e 4-PIPBT.

5.1.3.2. Caracterização dos substratos 2-PIPBT, 3-PIPBT e 4-PIPBT

A Tabela 4 mostra as principais bandas e suas atribuições obtidas na espectroscopia vibracional no infravermelho para os substratos propargilados 2-PIPBT, 3-PIPBT e 4-PIPBT. As atribuições foram realizadas conforme descrito em Silverstein *et al.*⁵¹ e comparadas com valores já encontrados na literatura.

Tabela 4. Atribuição para as principais bandas de absorção na região do IV (cm^{-1}) obtidas para os substratos 2-PIPBT, 3-PIPBT e 4-PIPBT.^a

<i>Atribuições</i>	<i>2-PIPBT</i>	<i>3-PIPBT</i>	<i>4-PIPBT</i>
ν ($\text{C}_{\text{sp}}\text{-H}$)	3231	3210	3278
ν (C-H_{ar} e C-H_{alif})	3063 - 2921	2964 – 2875	3062 - 2857
ν ($\text{C}_{\text{sp}}\text{-C}_{\text{sp}}$)	2115	2112	2132
ν (C=N)	1719	1722	1735
ν (C=C)	1582 e 1455	1594 e 1432	1601 e 1478
ν (C-N)	1215	1259	1259
ν (-CH=CH-)	973	998	1014
ν (<i>Anel aromático</i>)	816	795	840
ν (<i>Anel aromático</i>)	751	758	754

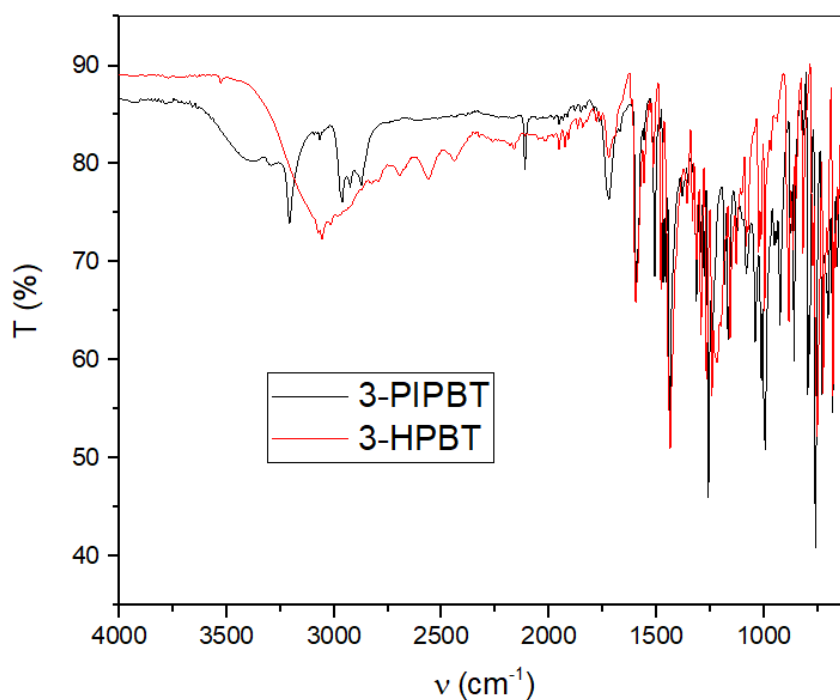
^aEspectros obtidos em pastilha de KBr.

É possível confirmar a obtenção dos substratos propargilados pela presença de duas bandas características para o grupo propargil. A banda de deformação axial de C-H de alcinos monossustituídos ocorre, geralmente, entre 3267 e 3333 cm^{-1} . A banda de deformação axial de $\text{C}\equiv\text{C}$ dos alcinos ocorre entre 2100 e 2140 cm^{-1} , e por se tratar de um alcino terminal e razões de simetria, esta é mais intensa que a de uma ligação $\text{C}\equiv\text{C}$ interna. Observam-se ainda os estiramentos característicos dos grupamentos aromáticos e alifáticos entre 2900 e 3100 cm^{-1} , bem como a deformação axial de C=N, análoga a carbonila entre 1615 e 1700 cm^{-1} . Entre 1500 e 1400 cm^{-1} e 1585 e 1600 cm^{-1} verificam-se as bandas das deformações axiais C=C do anel aromático. As vibrações de deformação angular fora do plano de C-H do anel aromático são normalmente intensas e são observadas entre 675 e 900 cm^{-1} . Como mencionado, estes valores são concordantes com os citados na literatura.⁵¹

Os espectros de IV obtidos para os substratos (**2**, **4** e **6**) na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} serão mostrados no Apêndice.

Na Figura 14, pode-se observar a comparação entre os espectros dos substratos **3** e **4**. Nota-se a presença de duas bandas finas e intensas em 3210 e 2112 cm^{-1} para o substrato propargilado (**4**) e ausentes para o substrato 3-HPBT (**3**), confirmando a estrutura do composto. A ausência de uma banda larga na região de 3500 cm^{-1} evidencia a formação do substrato (**4**), pois mostra que não há mais grupo -OH na molécula.

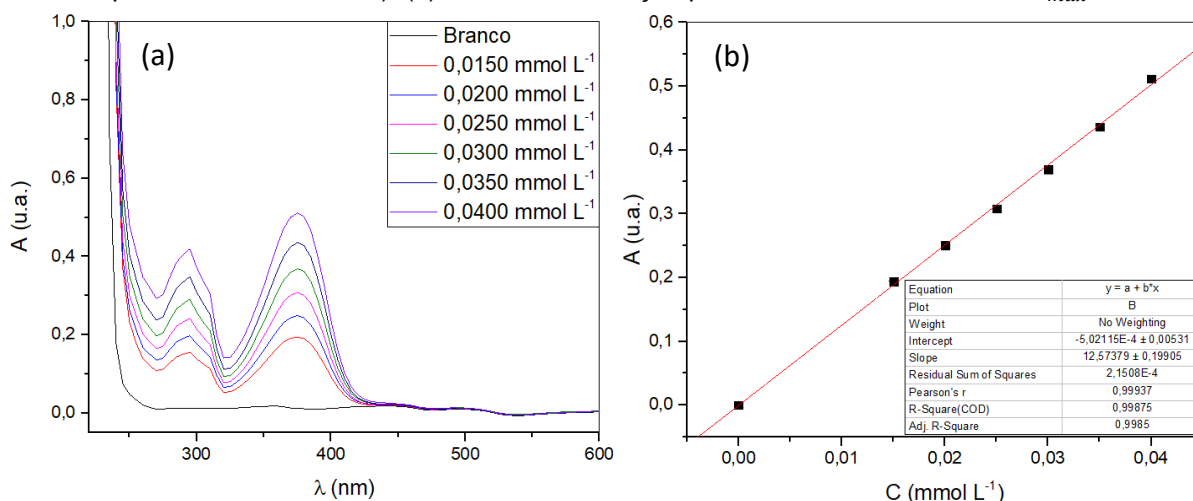
Figura 14. Espectro na região do infravermelho para os substratos 3-HPBT (vermelho) e 3-PIPBT (preto) (pastilha de KBr).



5.2. Determinação dos espectros eletrônicos no UV-vis

O espectro eletrônico do substrato 2-HPBT apresentou duas bandas de absorção distintas na região do UV-vis, e a variação espectral pode ser vista na Figura 15 (a). Essa determinação foi realizada em $\text{pH} = 11,0$ e DMSO 5%. Um pH mais elevado foi escolhido devido a precipitação do substrato em valores de pH menores, para uma concentração total de DMSO 5 %. A precipitação foi observada pelo aumento da linha base no espectro de UV-vis, característico de cinéticas de precipitação.

Figura 15. (a) Espectro na região do UV-vis para o substrato 2-HPBT (tampão Na₂CO₃/ NaHCO₃ 0,02 mol L⁻¹ – pH = 11,0 / DMSO 5 %). (b) Curva de calibração para o substrato 2-HPBT em λ_{max} = 375 nm.



A partir da determinação do espectro eletrônico, é possível construir uma curva de calibração de absorvância em função da concentração. Pela lei de Lambert-Beer pode-se determinar a absorvância molar (ϵ) pelo coeficiente angular da reta obtida, visto que a relação entre absorvância (A) e concentração ([C]) é linear dentro de uma faixa,⁵⁵ conforme Equação 1:

$$A = \epsilon b [C] \quad (\text{Eq. 1})$$

A curva de calibração obtida para o substrato 2-HPBT encontra-se na Figura 15 (b). Determinando a equação de reta, obtém-se o coeficiente angular da mesma. Como o caminho ótico (b) da cubeta utilizada é igual a 1 cm, a absorvância molar é o próprio coeficiente angular. O valor obtido para o coeficiente de absorvância molar para o substrato 2-HPBT em 375 nm foi de $(12574 \pm 199) \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

A presença de duas bandas no espectro de UV-vis está diretamente ligada à estrutura do composto. O substrato 2-HPBT apresenta características particulares uma vez que sua estrutura permite a formação de uma ligação de hidrogênio intramolecular. Essa possibilidade influencia primeiramente na conformação do composto e consequentemente na sua interação com a radiação. As duas bandas observadas no espectro da Figura 15 estão relacionadas às transições eletrônicas permitidas para esse substrato. A banda em mais alta energia ($\lambda = 294 \text{ nm}$) indica uma transição eletrônica entre os níveis de energia chamados de orbitais moleculares de fronteira. Essa transição está relacionada ao sistema conjugado do substrato e reflete uma transição $\pi \rightarrow \pi^*$ entre o orbital de mais baixa energia ocupado (HOMO) e o orbital de mais alta energia desocupado (LUMO). Considerando o comprimento

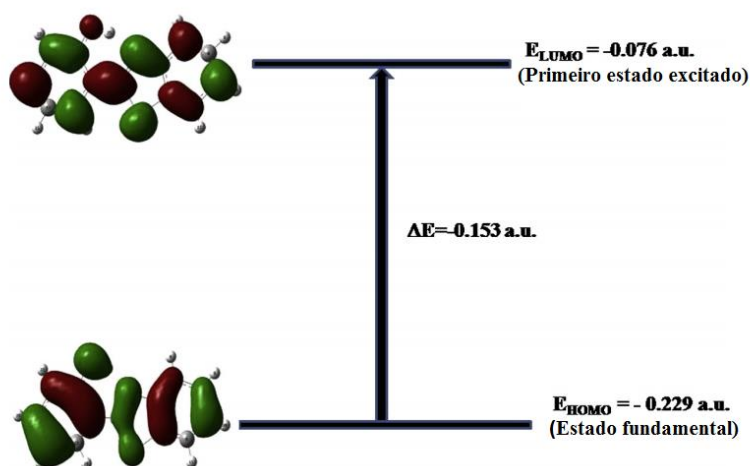
de onda máximo da banda de absorção, pode-se calcular o valor da diferença de energia entre os dois estados utilizando a equação de Planck. Essa equação relaciona a energia absorvida necessária para a transição de um elétron do estado fundamental para o estado excitado, com o comprimento de onda (λ) da radiação que promove a excitação,⁵⁵ conforme Equação 2:

$$\Delta E = h \frac{c}{\lambda} \quad (\text{Eq. 2})$$

onde h é a constante de Planck, igual a $6,626 \times 10^{-34}$ J s e c é a velocidade da luz no vácuo, igual a 299792458 m s⁻¹.

O valor encontrado de diferença de energia entre os orbitais HOMO e LUMO para o substrato foi de 4,21 eV, o que equivale a 0,155 u.a. (unidades atômicas de energia). Em um artigo da literatura⁵² os autores utilizam cálculos teóricos baseados no método da teoria do funcional da densidade (DFT) para estimar os valores de energia dos orbitais HOMO e LUMO para o conformero mais estável do substrato 2-HPBT. A representação esquemática dos orbitais de fronteira e os respectivos valores de energia são mostrados na Figura 16.

Figura 16. Níveis de energia dos orbitais moleculares de fronteira para o substrato 2-HPBT.⁵²

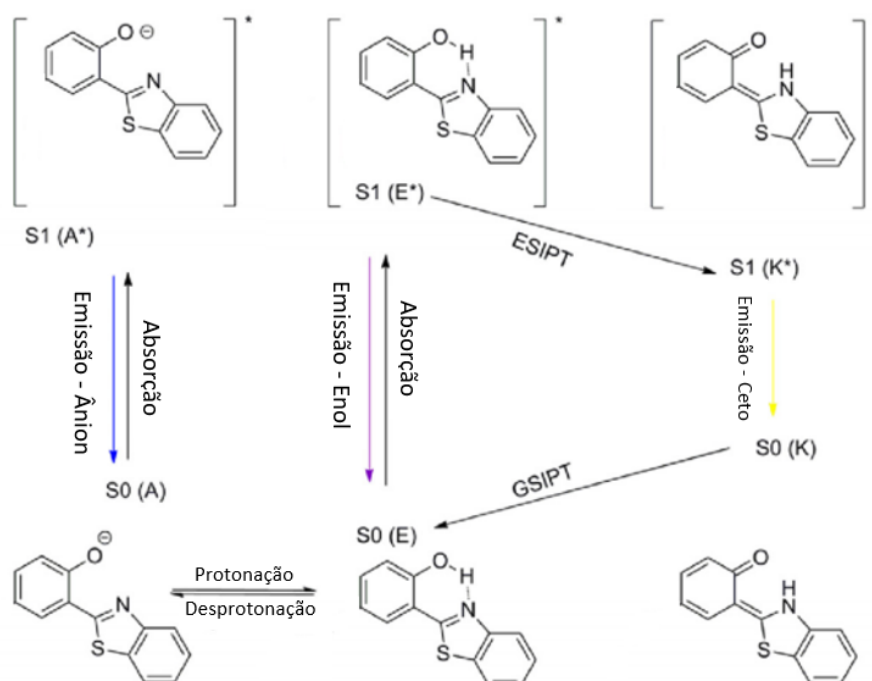


Observa-se que o valor de *gap* de energia calculado pelo comprimento de onda máximo de absorção (0,155 u.a.) e o valor determinado por cálculos quânticos (-0,153 u.a.), muito se aproximam, o que corrobora que a banda de mais alta energia do espectro da Figura 15 é de fato uma transição do estado fundamental para o primeiro estado excitado. Em sistemas conjugados, como no caso dos substratos sintetizados, a diferença de energia entre o HOMO e LUMO é pequena, o que é resultado de um

alto grau de transferência de carga intramolecular dos grupos terminais doadores de elétron para os grupos aceptores de elétron em um efeito de deslocalização dos orbitais π .

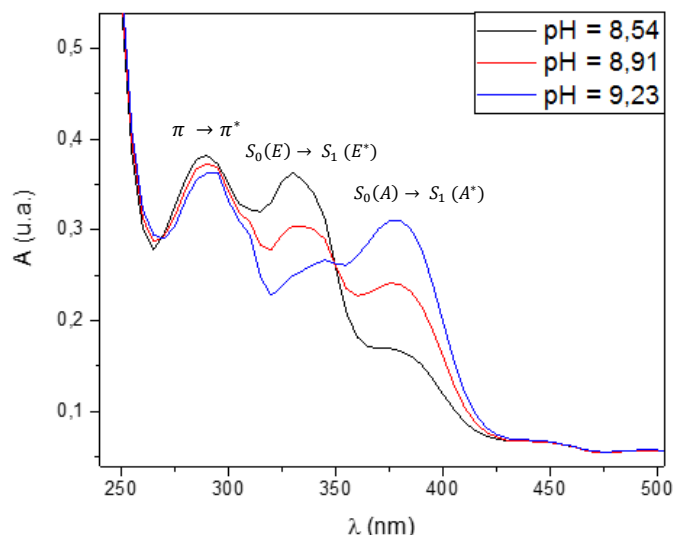
A outra banda observada na Figura 15 (a), de menor energia ($\lambda = 375$ nm), está relacionada a uma transição $A - A^*$ das espécies desprotonadas em solução.⁵³ Em pH = 11,0, o substrato 2-HPBT apresenta-se sob sua forma de ânion, o que lhe confere a possibilidade da transição entre os estados S_0 (A) e S_1 (A^*), conforme Esquema 9.

Esquema 9. Representação esquemática dos processos fotofísicos do substrato 2-HPBT.⁵³



Uma terceira banda é observada quando o substrato se apresenta parcialmente protonado. Considerando a estrutura do substrato e a possibilidade de tautomerização, conforme mostrado no Esquema 9, a presença de uma banda de energia intermediária ($\lambda = 329$ nm) é devido a transição $S_0(\pi) \rightarrow S_1(\pi^*)$ da ligação de hidrogênio intramolecular do tautômero enol (E – E^*). O espectro do substrato 2-HPBT em pH < 11, evidenciando a presença de três bandas, é mostrado na Figura 17. Esse espectro foi realizado em 20 % DMSO. Em solventes polares, como DMSO, mesmo o substrato estando protonado, a banda referente à transição do confôrmere desprotonado é observada devido à interação de desprotonação assistida por solvente.

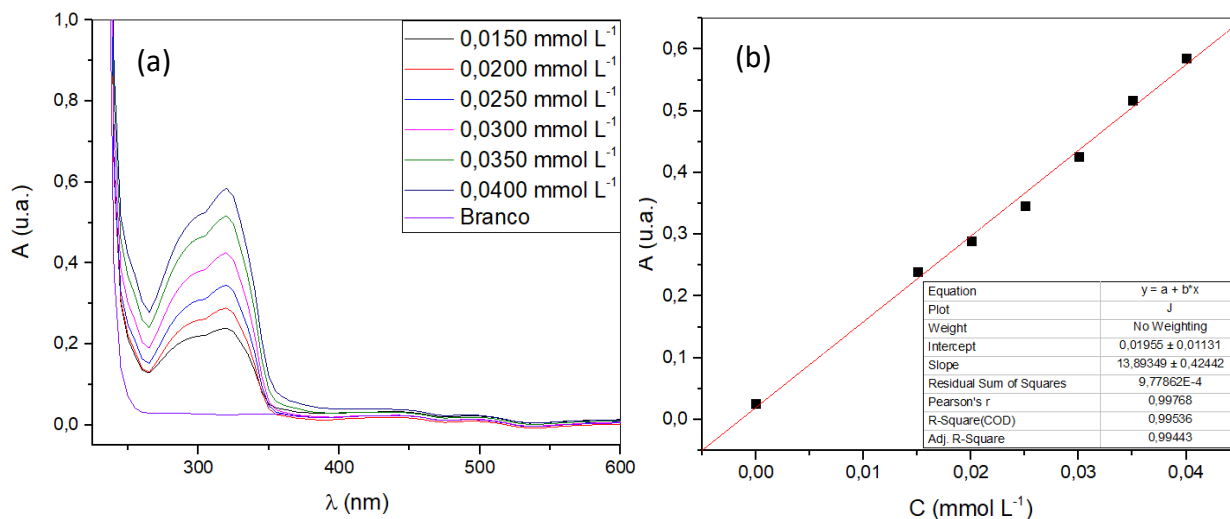
Figura 17. Espectros eletrônicos na região do UV-vis para o 2-HPBT ($0,03 \text{ mmol L}^{-1}$) em pH = 8,54; 8,91 e 9,23 - DMSO 20 % e $27,5^\circ\text{C}$.



O 2-PIPBT apresenta apenas uma banda em 320 nm. Essa banda está relacionada à transição eletrônica entre o estado fundamental e o estado excitado ($\pi \rightarrow \pi^*$) dos orbitais de fronteira. Apenas uma banda é esperada, pois este substrato não apresenta a possibilidade de formação de ligação de hidrogênio intramolecular e também a transição relacionada aos estados das espécies desprotonadas é impossibilitada visto que o oxigênio do grupo hidroxila está protegido.

O espectro obtido para o substrato **(2)** é mostrado na Figura 18 (a). Na Figura 18 (b) é mostrada a curva de calibração para o 2-PIPBT em comprimento de onda máximo 320 nm.

Figura 18. (a) Espectro na região do UV-vis para o 2-PIPBT (tampão $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ – pH = 7,42 / DMSO 5 %). (b) Curva de calibração para o substrato 2-PIPBT em $\lambda_{\text{max}} = 320 \text{ nm}$.

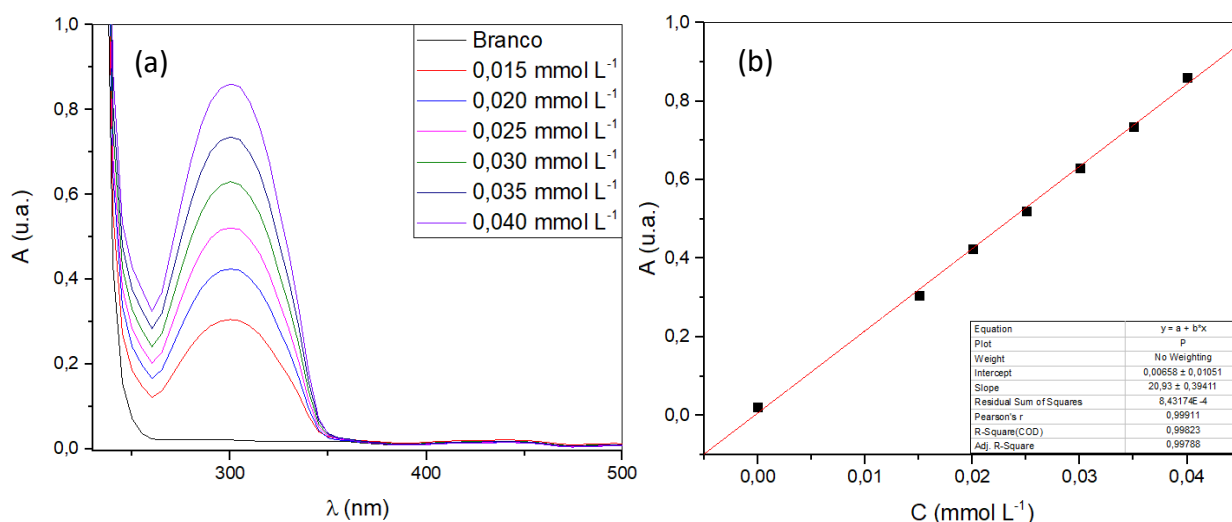


Com a curva de calibração pode-se determinar o valor do coeficiente de absorvidade molar para o composto 2-PIPBT. A partir do coeficiente angular da reta tem-se que o ε é igual a $(13893 \pm 424) \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

A diferença de energia entre os orbitais de fronteira calculada a partir do comprimento de onda de absorção máxima é igual a 3,88 eV, ou em unidades atômicas de energia: $\Delta E_{HOMO-LUMO} = 0,142 \text{ u.a.}$

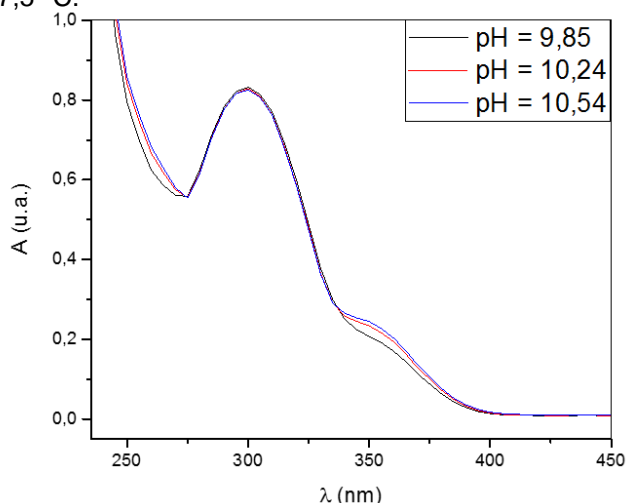
O espectro eletrônico obtido para o substrato 3-HPBT (**3**) em DMSO 5 % e solução tampão de $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 0,02 M – pH = 7,42 é mostrado na Figura 19. Nesse perfil observa-se também apenas uma banda de absorção em comprimento de onda em 300 nm, relacionada a transição ($\pi \rightarrow \pi^*$) entre os orbitais moleculares HOMO e LUMO da molécula. O fenômeno de ligação de hidrogênio intramolecular, e consequentemente o equilíbrio entre as formas ceto-enólica, não é possível nesse substrato, considerando a estrutura do composto. Dessa forma, a banda de energia intermediária respectiva à essa transição não é observada.

Figura 19. (a) Espectro na região do UV-vis para o substrato 3-HPBT (tampão $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 0,02 mol L^{-1} – pH = 7,42 / DMSO 5 %). (b) Curva de calibração para o substrato 3-HPBT em $\lambda_{max} = 300 \text{ nm}$.



Em pH 7,42 o composto apresenta-se quase que exclusivamente na forma protonada, o que explica a ausência da banda de absorção relacionada a transição entre os estados das espécies desprotonadas ($A - A^*$). A baixa concentração de DMSO também não promoveu a interação de desprotonação assistida por solvente. Essa banda é visualizada em pH maiores, como pode ser observado na Figura 20. O comprimento de onda relacionado a essa transição é igual a 360 nm.

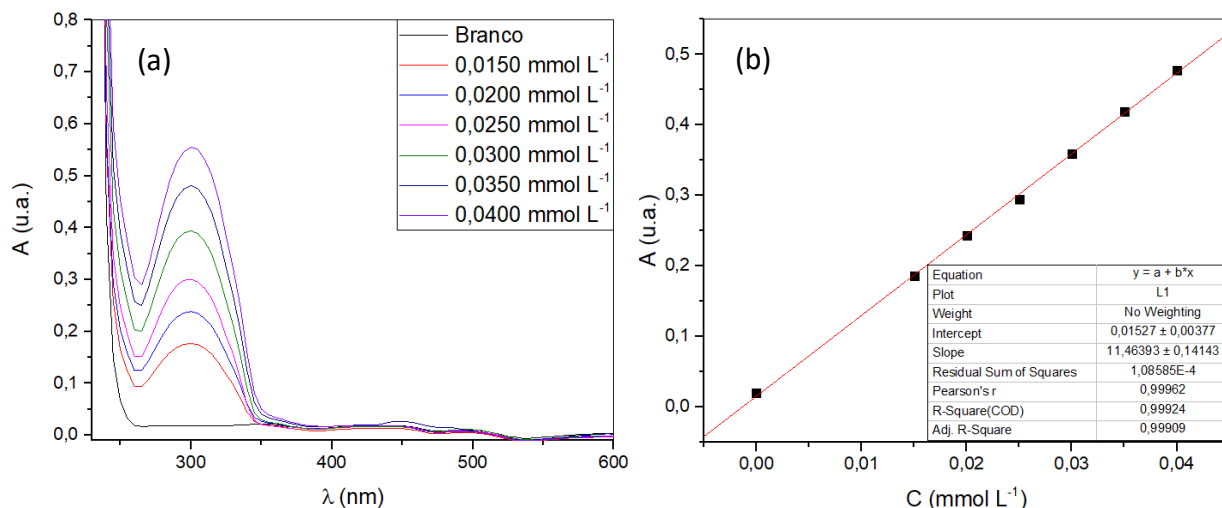
Figura 20. Espectro eletrônico na região do UV-vis para o 3-HPBT ($0,03 \text{ mmol L}^{-1}$) em pH = 9,85; 10,24 e 10,54 - DMSO 5 % e $27,5^\circ\text{C}$.



O valor de absorvidade molar para o 2-HPBT calculado a partir da curva de calibração mostrada na Figura 19 (b) é $\varepsilon = (20470 \pm 234) \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A diferença de energia entre o orbital ocupado de menor energia e o orbital desocupado de mais alta energia é igual a 4,13 eV ou 0,152 u.a., considerando o comprimento de onda máximo.

O propargilado 3-PIPBT (**4**) apresentou o espectro na região do UV-vis mostrado na Figura 21. Observa-se em pH = 7,42 e DMSO 5 % uma banda centrada em comprimento de onda igual a 301 nm referente a transição eletrônica $\pi \rightarrow \pi^*$ entre os níveis de energia fundamental e primeiro estado excitado. Não foram observadas outras bandas relacionadas às transições das espécies desprotonadas, uma vez que a formação da espécie aniônica (R-Ph-O^-) não é formada pela presença do grupo propargila.

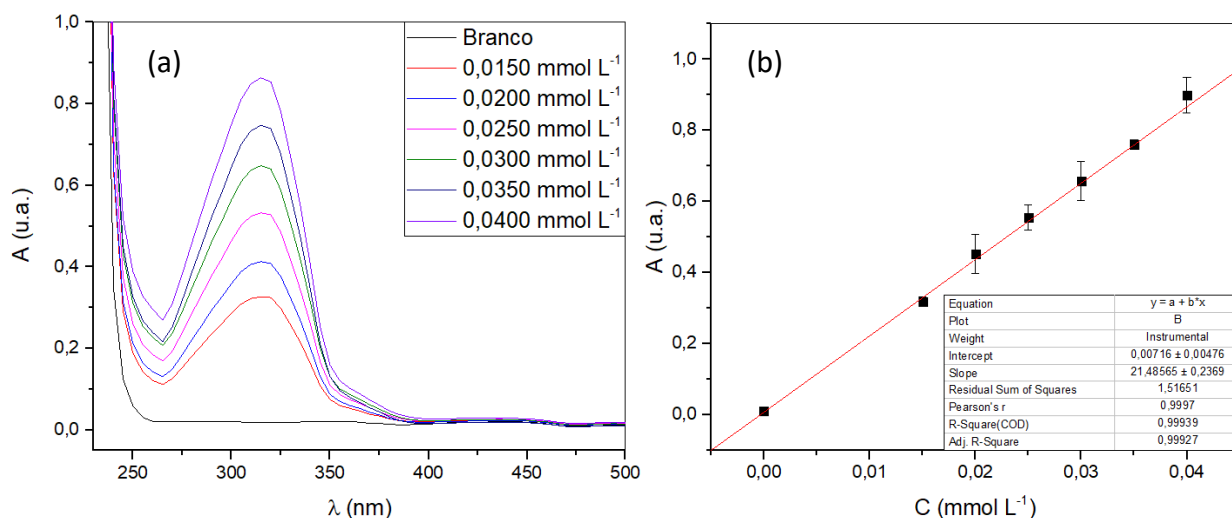
Figura 21. (a) Espectro na região do UV-vis para o 3-PIPBT (tampão $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ – pH = 7,42 / DMSO 5 %). (b) Curva de calibração para o substrato 3-PIPBT em $\lambda_{\text{max}} = 301 \text{ nm}$.



Considerando o $\lambda_{m\acute{a}x}$ de absorção, tem-se que a diferença de energia entre os orbitais de fronteira é igual a 4,14 eV ou 0,152 u.a.. Na Figura 21 (b) é mostrada a curva de calibração para o composto 3-PIPBT. A partir do coeficiente angular da reta pode-se determinar o valor de absorvidade molar para o composto **(4)**, que nesse caso foi de (11464 ± 141) L mol⁻¹ cm⁻¹.

A espectroscopia na região de UV-vis para o substrato 4-HPBT **(5)** também confirma a discussão realizada anteriormente para o substrato 3-HPBT. Em pH 7,42 (tampão KH₂PO₄/ Na₂HPO₄ 0,02 M) e DMSO 5 %, o substrato apresentou apenas uma banda em $\lambda_{m\acute{a}x} = 315$ nm, conforme apresentado na Figura 22. Essa banda se relaciona a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ da molécula conjugada de benzotiazol. A diferença de energia entre os níveis HOMO e LUMO é igual a 3,93 eV ou 0,145 u.a. A estrutura do composto 4-HPBT não permite a interação de ligação de hidrogênio intramolecular entre a hidroxila e o nitrogênio, justificando a ausência da banda de energia intermediária relacionada a transição do tautômero enol.

Figura 22. (a) Espectro na região do UV-vis para o 4-HPBT (tampão KH₂PO₄/ Na₂HPO₄ 0,02 mol L⁻¹ – pH = 7,42 / DMSO 5 %). (b) Curva de calibração para o substrato 4-HPBT em $\lambda_{m\acute{a}x} = 315$ nm.

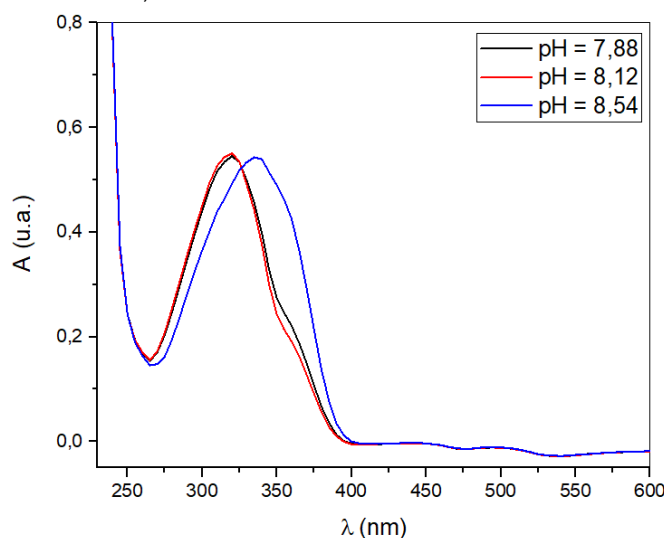


Com a curva de calibração obtida para o 4-HPBT **(5)** e mostrada na Figura 21 (b), determinou-se o valor de absorvidade molar para o substrato. O valor encontrado foi de $\epsilon = (21486 \pm 237)$ L mol⁻¹ cm⁻¹. Esse valor de ϵ indica que a transição entre os estados $\pi \rightarrow \pi^*$ é permitida em relação às regras de seleção. Essa transição é tanto permitida pela regra de Laporte (simetria) como também por questões de spin.⁵⁶

Observa-se ainda na Figura 21 (a) uma pequena deformação na banda em torno de 355 nm. A presença de uma banda em torno de 360 nm em pH > 7,42 é

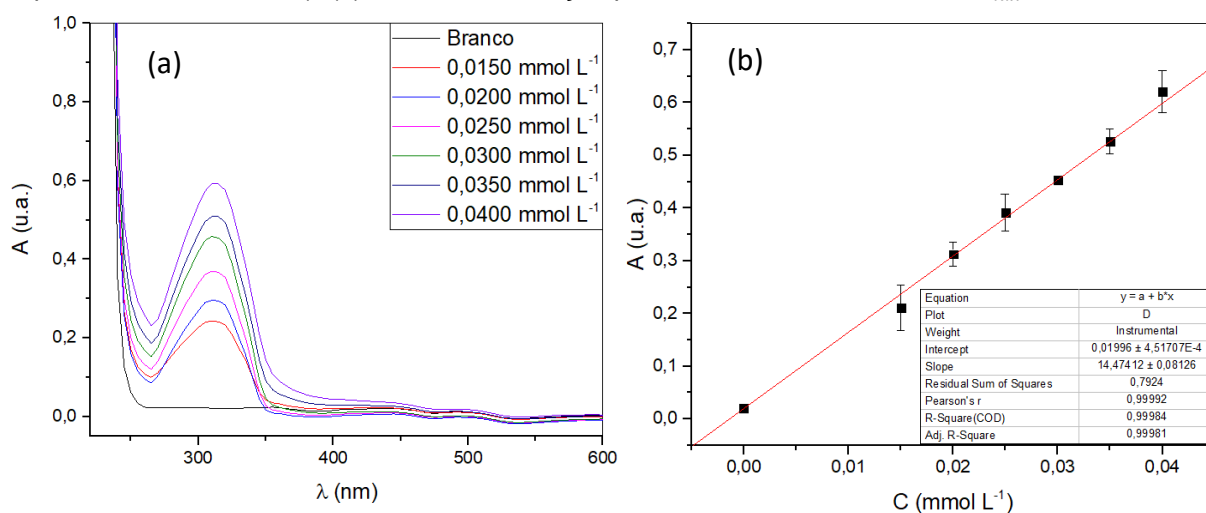
atribuída às transições eletrônicas entre os níveis S_0 (A) e S_1 (A^*) das espécies desprotonadas em solução. Esse efeito pode ser melhor visualizado na Figura 23, na qual o espectro do substrato 4-HPBT foi realizado em valores de pH maiores.

Figura 23. Espectros eletrônicos na região do UV-vis para o substrato 4-HPBT ($0,03 \text{ mmol L}^{-1}$) em pH = 7,88; 8,12 e 8,54 – DMSO 5 % e $27,5^\circ\text{C}$.



O substrato propargilado 4-PIPBT (**6**) apresenta unicamente uma banda de absorção em comprimento de onda igual a 312 nm. Como discutido anteriormente, os substratos propargilados não apresentam a contribuição da espécie desprotonada e nem a possibilidade de ligação de hidrogênio intramolecular. Dessa forma, a banda centrada em 312 nm é referente também a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ entre o HOMO e LUMO, com diferença de energia igual a 3,97 eV (0,146 u.a.). O espectro do substrato 4-PIPBT é mostrado na Figura 24.

Figura 24. (a) Espectros na região do UV-vis para o 4-PIPBT (tampão $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ – pH = 7,42 / DMSO 5 %). (b) Curva de calibração para o substrato 4-PIPBT em $\lambda_{\text{max}} = 312 \text{ nm}$.



O coeficiente de absortividade molar para o substrato 4-PIPBT (**6**), determinado a partir do coeficiente angular da curva de calibração (Figura 24 (b)) foi igual a $(14474 \pm 81) \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Os valores de λ_{max} e ϵ determinados para cada substrato são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5. Propriedades fotofísicas dos substratos 2, 3 e 4-HPBT e 2, 3 e 4-PIPBT.

Substrato	λ_{max} (nm)	ϵ ($\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)	$\Delta E_{HOMO-LUMO}$ (eV)
2-HPBT	294 e 375	9915 ± 353 e 12574 ± 199	4,21
2-PIPBT	320	13893 ± 424	3,88
3-HPBT	300	20470 ± 234	4,13
3-PIPBT	301	11464 ± 141	4,14
4-HPBT	315	21486 ± 237	3,93
4-PIPBT	312	14474 ± 81	3,97

Observa-se que para todos os substratos, os comprimentos de onda de absorção máxima variaram pouco, estando na faixa de 294 a 320 nm. Esses valores indicam que essas bandas estão relacionadas às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ para cada substrato e referem-se à presença do grupo cromóforo benzotiazol nas moléculas.⁵⁷ É possível observar ainda que a propargilação dos substratos não alterou significativamente os valores de λ_{max} , o que demonstra que os níveis de energia quase não foram alterados com a modificação da estrutura do substrato.

Os altos valores de coeficiente de absortividade molar ($\sim 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) encontrados para os compostos, indicam que a probabilidade das transições entre os níveis de energia considerados é extremamente grande de ocorrer. Todas as transições observadas são tanto permitidas por questões de simetria (regra de Laporte) como também por questões de spin, o que caracteriza uma transição entre os orbitais moleculares HOMO e LUMO.⁵⁷ Observa-se, no entanto, que para os substratos propargilados os valores de ϵ são menores que para os respectivos substratos não propargilados, o que deve estar relacionado a uma mudança pontual na planaridade de cada um dos compostos. O menor grau de planaridade não permite uma deslocalização eletrônica efetiva entre os dois sistemas π presentes nas moléculas, e os compostos propargilados parecem ser menos planas que seus

precursores, diminuindo a probabilidade da transição eletrônica e consequentemente o valor de coeficiente de absorvidade molar.⁵⁷

Após estudar a absorção no UV-vis dos compostos sintetizados 2-HPBT (**1**), 3-HPBT (**3**) e 4-HPBT (**5**) optou-se pela determinação dos valores das constantes de acidez (pK_a) desses substratos através do método espectrofotométrico.

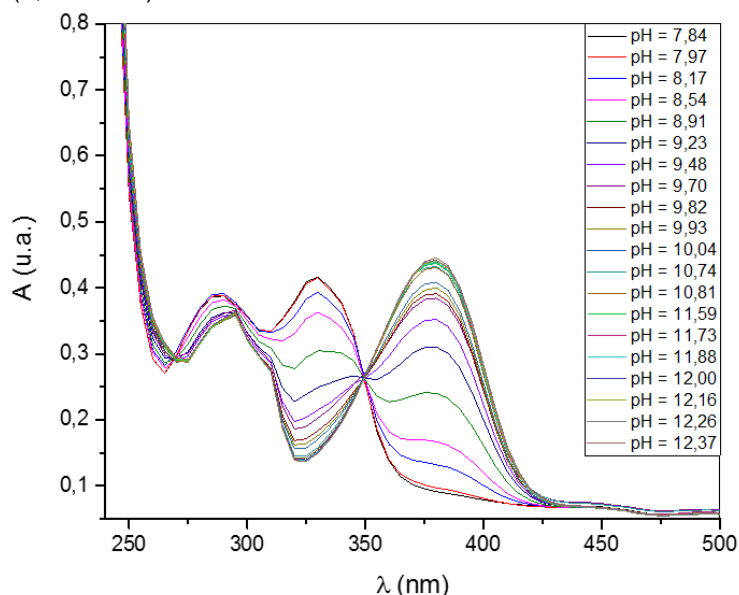
5.3. Titulação espectrofotométrica

A partir do modelo de Lambert-Beer, na qual a intensidade da luz transmitida por um meio absorvedor é proporcional à concentração da espécie absorvedora, pode-se determinar a relação de concentração entre as espécies dissociadas e não dissociadas em função do pH e dessa forma estimar o valor de pK_a para os substratos.⁵⁵

Para essa determinação será considerada que em qualquer pH a absorbância total da solução será devida a absorbância da fração protonada do substrato e da fração desprotonada ($A_{tot} = A_{Hin} + A_{In^-}$) e proporcional à concentração. As concentrações das espécies presentes poderão ser estimadas conhecendo-se as absorbâncias (A , A_{Hin} e A_{In^-}) a vários valores de pH.

O 2-HPBT (**1**) foi titulado com alíquotas exatas de uma solução padrão 0,1 mol L⁻¹ de HCl, com concentração 0,0300 mmol L⁻¹ do substrato para que a concentração do titulado permanecesse constante durante a determinação. A força iônica do meio foi mantida constante com NaCl 0,1 mol L⁻¹. Primeiramente, foram adicionados 1000 µL de uma solução 0,1 mol L⁻¹ de NaOH, com concentração constante de substrato, para o ajuste do pH do meio em 12,37. Em seguida, os 20,1 mL da solução 0,030 mmol L⁻¹ de 2-HPBT em DMSO 20 % foram titulados. O pH do meio foi acompanhado diretamente com as leituras feitas em um pHmetro Expandle Ion Analyzer EA920 Orion Research, previamente calibrado. Após cada adição de titulante foi medido o espectro de absorção da espécie no espectrofotômetro UV-vis Varian Cary 50 Bio. A partir de múltiplas adições de titulante foi possível obter o espectro eletrônico do substrato 2-HPBT em função do pH. A variação espectral observada é mostrada na Figura 25 a seguir.

Figura 25. Variação espectral na região de UV-vis em função do pH para o 2-HPBT ($3,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$)¹⁾ titulado com NaOH ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$).



Observa-se no espectro obtido uma variação da absorvância do substrato 2-HPBT em função do pH do meio. Em cada um dos valores de pH, pode-se considerar que a absorvância total é a soma da absorvância do substrato dissociado com a fração não dissociada. No ponto isobéstico observado em 350 nm, considera-se que a absorvidade molar de todas as espécies em equilíbrio é igual, e a probabilidade da forma ácida e básica é a mesma, independente do pH.

A construção de um gráfico de absorvância em função do pH permite a determinação da constante de ionização. Esse perfil foi construído considerando a diminuição da absorvância em 380 nm e o aumento da absorvância em 330 nm com a adição do titulante. O ponto de intersecção das duas curvas representa o valor de pK_a para o substrato. O gráfico encontrado nessa determinação é mostrado na Figura 26.

Outro método de determinar o valor da constante de ionização é considerar as concentrações de cada espécie em um determinado pH. Como as concentrações são proporcionais à absorvância, tem-se que em qualquer pH: $A = A_{In^-} + A_{HIn}$. Assim as concentrações das espécies podem ser estimadas conforme Equações 3 e 4:

$$[In^-] = (A) - (A_{HIn}) \quad \text{e} \quad [HIn] = (A_{In^-}) - (A) \quad (\text{Eq. 3 e 4})$$

A partir das concentrações das duas espécies em equilíbrio: a forma dissociada (In^-) e a forma não dissociada (HIn), tem-se que a constante de dissociação ácida é dada pela Equação 5:

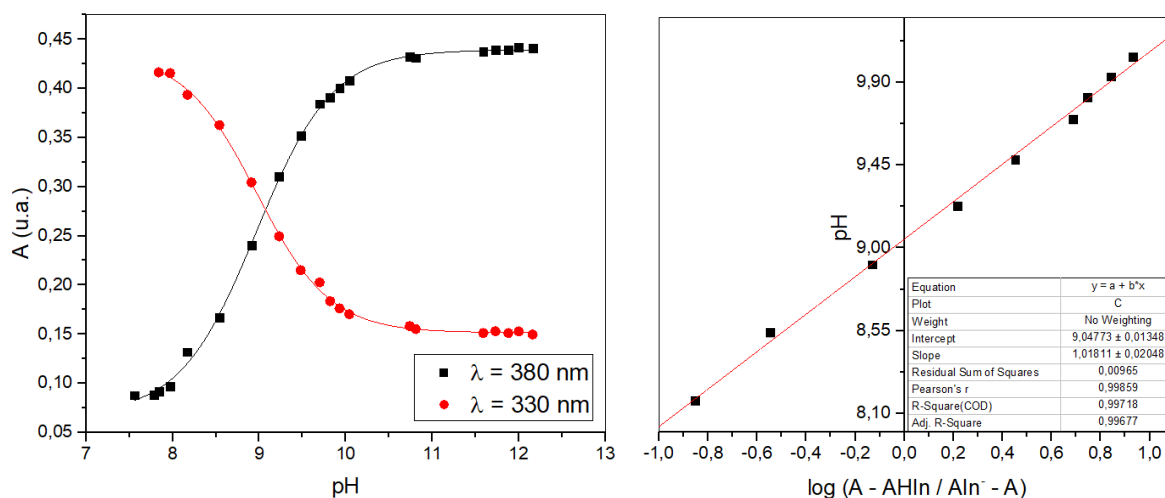
$$K_a = \frac{[H^+][In^-]}{[HIn]} \quad (\text{Eq. 5})$$

Considerando a equação de Henderson-Hasselbach e a proporcionalidade entre as concentrações das espécies e a sua absorção, conforme Equações 3 e 4, e considerando que a absorbância da espécie não dissociada será dada no menor pH da titulação, e a absorbância da espécie totalmente protonada no mais alto valor de pH, tem-se a seguinte relação entre pH e os valores de absorbância medidos (Equação 6):

$$pH = pK_a + \log \left(\frac{(A) - (A_{HIn})}{(A_{In^-}) - (A)} \right) \quad (\text{Eq. 6})$$

Com a construção de um gráfico do pH lido em função de $\log \left(\frac{(A) - (A_{HIn})}{(A_{In^-}) - (A)} \right)$, é possível determinar o valor da constante de dissociação a partir do coeficiente linear da reta. O gráfico obtido juntamente com a equação de reta encontra-se na Figura 26.

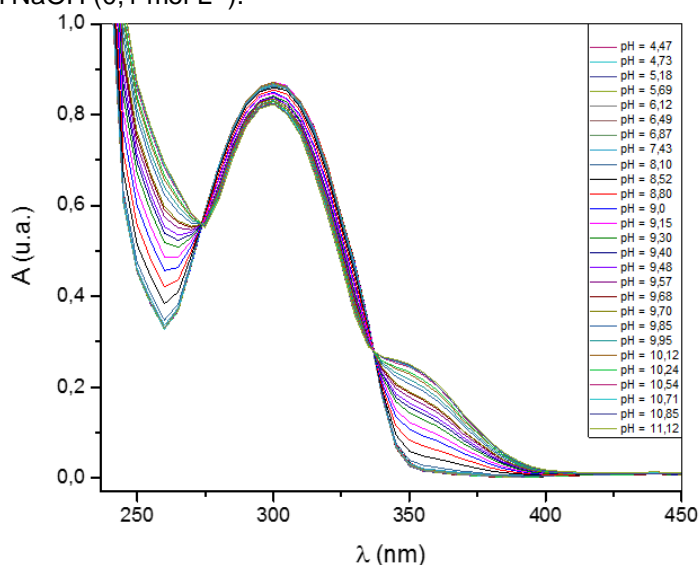
Figura 26. (a) Dependência da absorbância pelo pH nos comprimentos de onda 330 nm (bola vermelha) e 380 nm (quadrado preto). (b) Linearização da equação de Henderson-Hasselbach.



O valor de pK_a encontrado para o gráfico A foi igual a 9,05. Na determinação gráfica a partir do coeficiente linear da reta (Gráfico B) encontrou-se o valor de $pK_a = 9,05 \pm 0,01$. A constante de ionização por sua vez apresentou um valor de $K_a = 8,91 \times 10^{-10}$.

A constante de ionização do 3-HPBT também foi determinada pela titulação espectrofotométrica. Titularam-se 20,0 mL de uma solução 0,030 mmol L⁻¹ de 3-HPBT em de DMSO 5 % (pH_{inicial} = 2,55) com alíquotas exatas de uma solução padrão 0,1 mol L⁻¹ de NaOH, com concentração 0,030 mmol L⁻¹ do substrato. A força iônica do meio foi mantida constante com uma solução 0,1 mol L⁻¹ de NaCl. O potencial hidrogeniônico do meio foi acompanhado diretamente com as leituras feitas no pHmetro e os espectros de absorção das espécies foram medidos na região do UV-vis. A variação espectral observada em função do pH do meio para o substrato 3-HPBT é mostrado na Figura 27.

Figura 27. Variação espectral na região de UV-vis em função do pH para o substrato 3-HPBT (0,03 mmol L⁻¹) titulado com NaOH (0,1 mol L⁻¹).

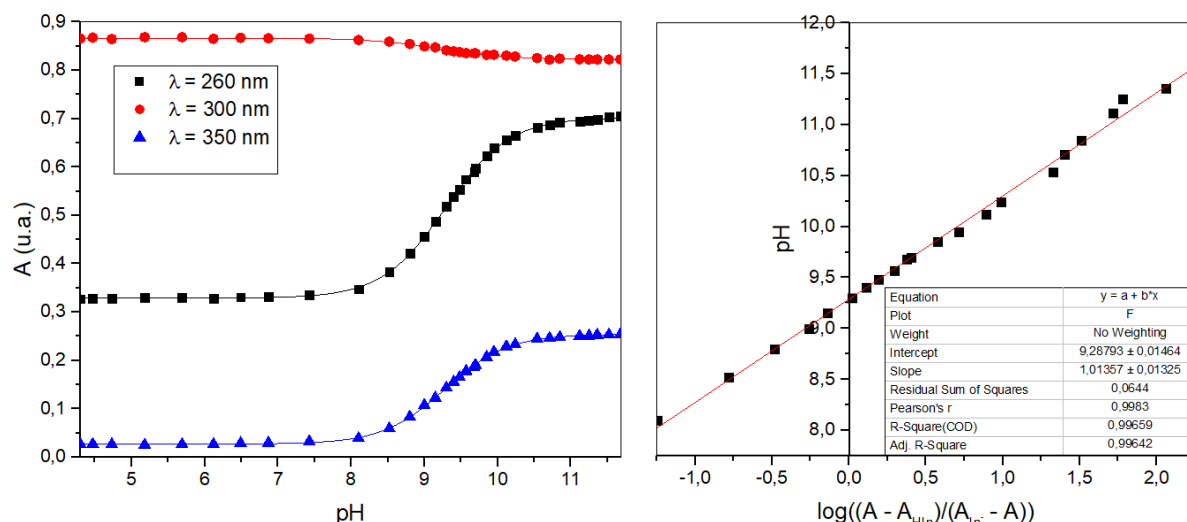


Com o espectro acima é possível perceber uma dependência entre o perfil de absorção das espécies e o pH da solução. Nota-se a presença de dois pontos isobésticos em 274 nm e 337 nm.

A construção de um gráfico (Figura 28) de absorbância em função do pH em cada um dos três comprimentos de onda na qual se observa a máxima variação da absorção com o pH da solução (260 nm, 300 nm e 350 nm) permite a determinação do valor de pK_a para o substrato.

A determinação gráfica da constante de ionização foi realizada seguindo o mesmo processo descrito anteriormente, na qual considerou-se a equação de Henderson-Hasselbach, e que a concentração das espécies em equilíbrio é proporcional a absorbância das mesmas. A equação linearizada encontrada é mostrada na Figura 28 (b).

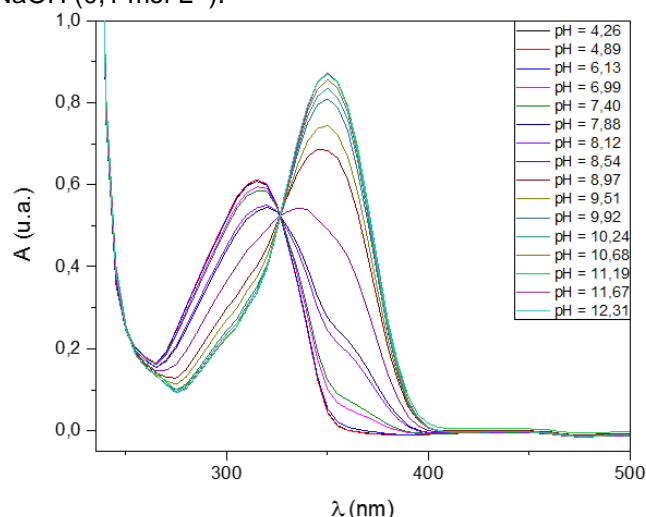
Figura 28. (a) Dependência da absorvância pelo pH nos comprimentos de onda 260 nm (quadrado preto), 300 nm (bola vermelha) e 350 nm (triângulo azul). (b) Linearização da equação de Henderson-Hasselbach.



O valor de pK_a encontrado para a determinação a partir da Figura 28(a) é de 9,26. A constante determinada pelo método gráfico (Figura 28 (b)), considerando o coeficiente linear da reta como o pK_a , foi de $9,28 \pm 0,01$. Considerando a constante de ionização para o substrato 3-HPBT, tem-se que $K_a = 5,25 \times 10^{-10}$.

A determinação do pK_a para o 4-HPBT seguiu o mesmo procedimento descrito anteriormente. Foram titulados 20,1 mL de uma solução $0,030 \text{ mmol L}^{-1}$ de 4-HPBT em de DMSO 5 % ($pH_{\text{inicial}} = 4,26$) com alíquotas exatas de uma solução padrão $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH, com concentração $0,030 \text{ mmol L}^{-1}$ do substrato. O pH do meio foi acompanhado diretamente com as leituras feitas em um pHmetro e os espectros de absorção das espécies foram medidos. O perfil do espectro eletrônico em função do pH do meio para o substrato 4-HPBT é mostrado na Figura 29, logo a seguir.

Figura 29. Variação espectral na região de UV-vis em função do pH para o substrato 4-HPBT ($0,03 \text{ mmol L}^{-1}$) titulado com NaOH ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$).

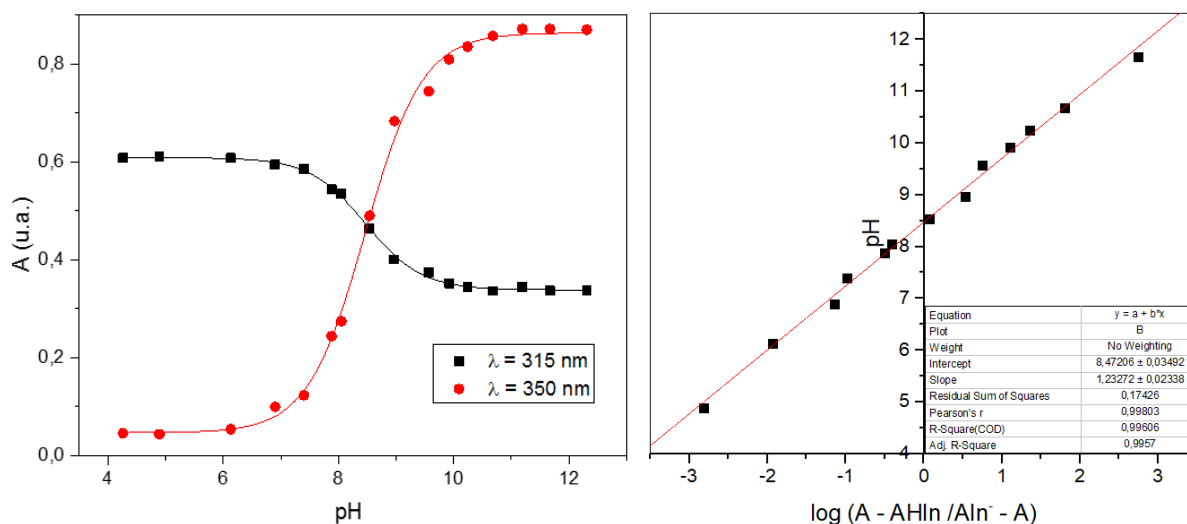


É possível perceber uma dependência clara entre o espectro de absorção das espécies e o pH da solução. Observa-se ainda a presença de um ponto isobéstico em 326 nm. Nesse ponto, a absorvidade molar ($17477 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) das duas espécies em equilíbrio para o substrato é a mesma. A presença de um único ponto isobéstico também é indicativo para apenas uma constante de ionização.

O acompanhamento da absorbância em função do pH nos comprimentos de onda 315 nm (diminuição da absorção) e 350 nm (aumento da absorção) permite a determinação do pK_a a partir da construção do gráfico demonstrado na Figura 30 (a).

O método de determinação gráfica da constante de ionização seguiu os mesmos procedimentos descritos na seção anterior, na qual foi considerada a equação de Henderson-Hasselbach, e que a concentração das espécies em equilíbrio é proporcional a absorbância das mesmas. A equação linearizada é mostrada na Figura 30 (b).

Figura 30. (a) Dependência da absorbância pelo pH nos comprimentos de onda 315 nm (quadrado preto) e 350 nm (bola vermelha). (b) Linearização da equação de Henderson-Hasselbach.



O valor de pK_a encontrado para a determinação a partir da Figura 30 (a) é de 8,50. A constante determinada pelo método gráfico, considerando o coeficiente linear da reta como o pK_a , foi de $8,47 \pm 0,03$. Considerando a constante de ionização para o 4-HPBT, tem-se $K_a = 3,16 \times 10^{-9}$.

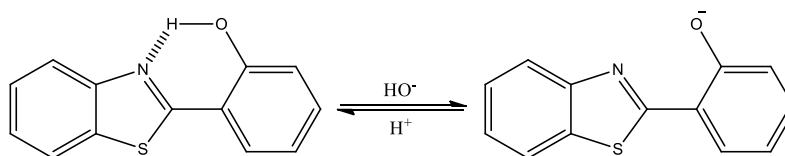
Comparando-se os três valores de pK_a encontrados para os substratos 2-HPBT, 3-HPBT e 4-HPBT percebe-se uma influência clara na posição do grupo hidroxila na constante de ionização para os substratos. As constantes determinadas apresentam-se de forma resumida na Tabela 6.

Tabela 6. Valores de constante de acidez para os substratos 2-HPBT, 3-HPBT e 4-HPBT.

Substrato	pK_a	K_a
2-HPBT	$9,05 \pm 0,01$	$8,91 \times 10^{-10}$
3-HPBT	$9,28 \pm 0,01$	$5,25 \times 10^{-10}$
4-HPBT	$8,47 \pm 0,03$	$3,16 \times 10^{-9}$

A diferença observada entre as constantes está intrinsecamente ligada à estrutura do substrato. Observa-se que o substrato 3-HPBT apresenta o maior valor de pK_a , o que pode ser explicado considerando a posição *meta* do grupo hidroxila. Nessa posição a estabilização da base conjugada ocorre unicamente por um efeito indutivo doador do oxigênio, sem a presença do efeito mesomérico pronunciado nos substratos *orto* e *para*-hidroxilados. Assim, a forma ácida se torna mais estável aumentando seu pK_a ($K_a = 5,25 \times 10^{-10}$). A diferença observada entre os substratos 2-HPBT e 4-HPBT - que possuem uma estabilização adicional devido ao efeito de ressonância da base conjugada - pode ser explicada considerando que em posição *orto*, o grupo hidroxila interage com o nitrogênio do grupo benzotiazol formando uma ligação de hidrogênio intramolecular. Essa formação confere ao substrato protonado uma maior estabilidade frente a sua base conjugada, na qual não há a presença do mesmo fenômeno. Uma estabilidade adicional ainda é observada visto que a interação proveniente da ligação de hidrogênio intramolecular ocorre pela formação de um pseudoanel de seis membros, conforme mostrado na Figura 31.

Figura 31. Estrutura do substrato 2-HPBT evidenciando o fenômeno de ligação de hidrogênio intramolecular.

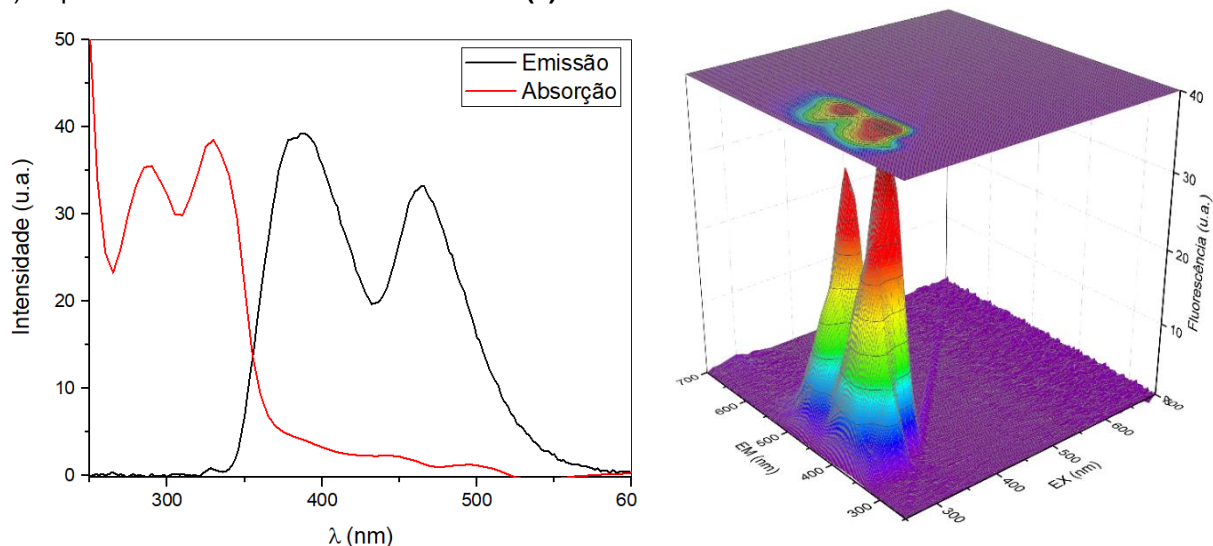


O substrato 4-HPBT, em posição *para*, não apresenta essa possível interação do grupo hidroxila com o nitrogênio do grupamento benzotiazol, o que não lhe confere uma maior estabilidade frente à ionização, diminuindo o pK_a e confirmando os valores mostrados na Tabela 6.

5.4. Espectrometria de fluorescência

Os espectros de fluorescência para os substratos (**1** a **6**) foram obtidos em um espectrofluorímetro Varian Cary-Eclipse, em concentração $0,03 \text{ mmol L}^{-1}$ de cada substrato, em DMSO 5 % (tampão $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ $0,02 \text{ M}$ – $\text{pH} = 7,42$) para os substratos (**2** a **6**) e DMSO 100 % para o substrato **1**. Essas determinações foram realizadas a fim de determinar os comprimentos de onda de emissão e excitação máxima, bem como observar o perfil do espectro nessas condições. As leituras dos comprimentos de onda foram tomadas de forma simultânea pelo software ao fazer a varredura 3D desses parâmetros. O espectro 3D do substrato 2-HPBT é mostrado na Figura 32, juntamente com o espectro de comparação do perfil de absorção. Os demais espectros dos substratos (**2** a **6**) serão mostrados no Apêndice. Determinou-se ainda para cada composto o deslocamento de Stokes, que relaciona o comprimento de onda máximo de absorção e de emissão. As propriedades fotofísicas encontradas estão listadas na Tabela 7.

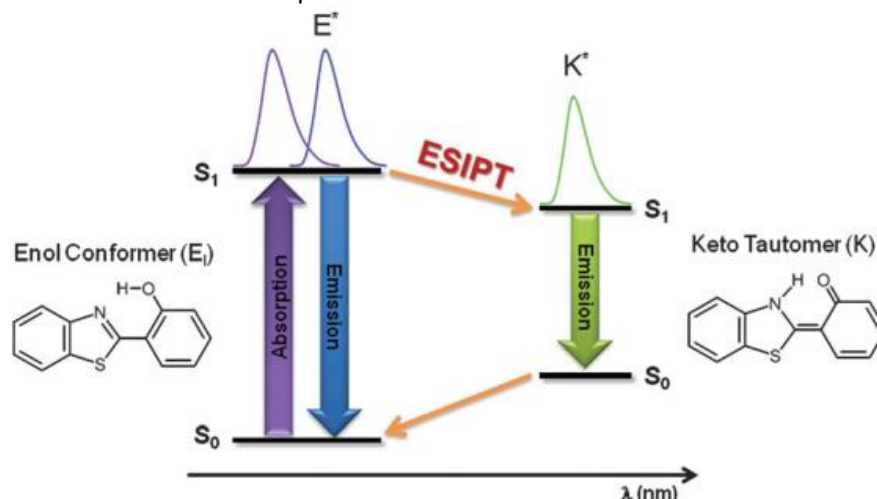
Figura 32. (a) Espectros de absorção e de emissão de fluorescência normalizada para o 2-HPBT (**1**). (b) Espectro 3D de fluorescência do 2-HPBT (**1**) em DMSO.



Na Figura 32, observam-se duas bandas de emissão para o 2-HPBT (**1**), centradas em 387 e 465 nm. A banda de maior energia está relacionada à emissão de fluorescência pelas espécies do conformero enol ($E - E^*$), enquanto a presença da banda em menor energia leva a emissão de fluorescência pelo tautômero ceto ($K - K^*$). Em compostos desse tipo, após a absorção UV, um conformero *cis*-enol (E^*) surge localmente, o qual tautomeriza para espécies em um estado excitado ceto (K^*),

de menor energia e decai para o estado fundamental (S_0) emitindo fluorescência em maiores comprimentos de onda.⁵⁸ Uma representação esquemática do processo fotofísico observado é mostrada na Figura 33.

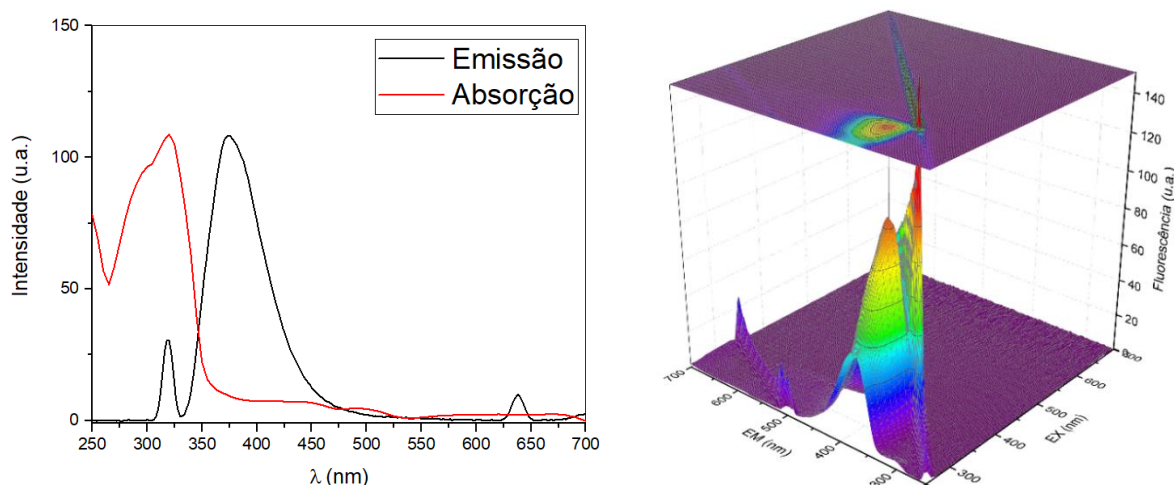
Figura 33. Diagrama de quatro níveis, representando o fenômeno de ESIPT e emissão de fluorescência pelo tautômero ceto em maiores comprimentos de onda.⁵⁸



A esse mecanismo se dá o nome de transferência protônica do estado excitado (ESIPT), e é observado no substrato 2-HBPT devido a posição *orto* do grupo hidroxila, e possibilidade de formação de ligação de hidrogênio intramolecular. O mecanismo de ESIPT também pode ser confirmado analisando-se o valor calculado de deslocamento de Stokes (Tabela 7). O deslocamento de Stokes leva em consideração a variação no comprimento de absorção e emissão máximo para a mesma transição eletrônica. Nesse caso, considerando que a banda em 329 nm é devida à absorção das espécie do tautômero enol, e que após tautomerização sofrem um deslocamento, emitindo em 465 nm, tem-se que o deslocamento de Stokes para o mecanismo de ESIPT é de 8890 cm^{-1} , concordando com valores da literatura ($\sim 9000\text{ cm}^{-1}$).⁵⁷

A ausência de duas bandas no espectro de fluorescência do substrato propargilado 2-PIPBT (**2**) também é comprovativo da tautomerização ceto-enólica observada acima. A Figura 34 apresenta o espectro de fluorescência do composto (**2**) e observa-se apenas uma banda de emissão. Essa banda está relacionada a emissão de radiação pelas espécies absorventes em 320 nm ($E - E^*$), sem a presença de espécies aniônicas ou isomerizadas. O baixo deslocamento de Stokes (4512 cm^{-1}) é referente às transições não-radiativas internas, que levam o estado excitado a decair para um estado de menor energia, emitindo em comprimentos de onda relativamente maiores.⁵⁹

Figura 34. (a) Espectros de absorção e de emissão de fluorescência normalizada para o 2-PIPBT (**2**). (b) Espectro 3D de fluorescência do 2-PIPBT (**2**) em DMSO 5 %.



Os demais valores de comprimentos de onda de absorção e de emissão e os deslocamentos de Stokes são mostrado na Tabela 7, logo abaixo.

Tabela 7. Propriedades fotofísicas de fluorescência dos substratos **1** a **6**.

Substrato	λ_{max} (nm)	λ_{EX} (nm)	λ_{EM} (nm)	DS (cm ⁻¹) ^a
2-HPBT (1)	329	330	387 e 465	4555 e 8890
2-PIPBT (2)	320	320	374	4512
3-HPBT (3)	300	320	384 e 552	7292 e 15217
3-PIPBT (4)	301	320	374	6485
4-HPBT (5)	315	320	388	5973
4-PIPBT (6)	312	310	378	5803

^aDS = deslocamento de Stokes

Percebe-se que para os demais substratos (**4**, **5** e **6**) também só foi observada uma única banda de emissão no espectro de fluorescência, com deslocamentos de Stokes por volta de 6000 cm⁻¹. Essas bandas estão todas relacionadas a emissão de radiação pelas espécies excitadas do meio, que após sofrerem um processo não radiativo interno, ligado a relaxações vibracionais, dissipação de energia por calor e reorganização do solvente, decaem para um estado de menor energia, num fenômeno chamado de transição interna não-radiativa (conversão interna), emitindo em comprimentos de onda maiores que os de absorção.⁵⁹ Esse fenômeno é esperado para essas transições conforme diagrama de energia de Jablonski. É interessante notar ainda que comparando-se os substratos não propargilados com os substratos

propargilados, observa-se uma pequena diferença no deslocamento de Stokes, confirmando que a emissão em menor energia é um fenômeno esperado. Adicionalmente, em todos casos os substratos propargilados emitiram em comprimentos de onda menores (cerca de 10 nm), indicando que a presença do grupo propargil dificulta a conversão interna.

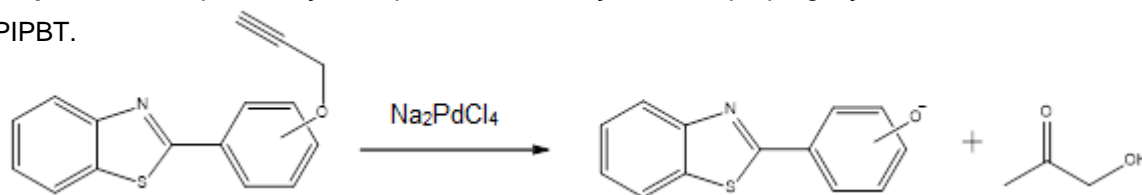
Um resultado inesperado, todavia, foi observado para o substrato 3-HPBT (**3**). Para esse composto foram identificadas duas bandas no espectro de fluorescência, quando o esperado seria apenas uma, conforme discutido anteriormente. A banda centrada em 384 nm pode ser atribuída a emissão das espécies que absorveram em 300 nm. Já a banda inesperada em 552 nm, apresentou um deslocamento de Stokes muito superior (15217 cm^{-1}) ao observado para o substrato 2-HPBT. Esse fenômeno para o composto 3-HPBT ainda não foi relatado na literatura até o presente momento. Possíveis explicações para essa observação podem estar relacionadas a formação de complexos (estruturas conjugadas) entre as próprias moléculas do substrato, como também uma tautomerização assistida pelo solvente. Estudos e análises adicionais de RMN e fluorescência em diferentes solventes podem dar indicativos concretos sobre o fenômeno observado, bem como explicar a presença de duas bandas no espectro de emissão.

5.5. Investigação mecanística

5.5.1. Estudos cinéticos

Os estudos cinéticos da reação de despropargilação dos substratos sintetizados foram realizados na região do UV-vis visto que todos os compostos apresentaram absorção nessa região. A reação tomada como base para o estudo é mostrada no Esquema 10 logo a seguir.

Esquema 10. Representação esquemática da reação de despropargilação dos substratos 2, 3 ou 4-PIPBT.



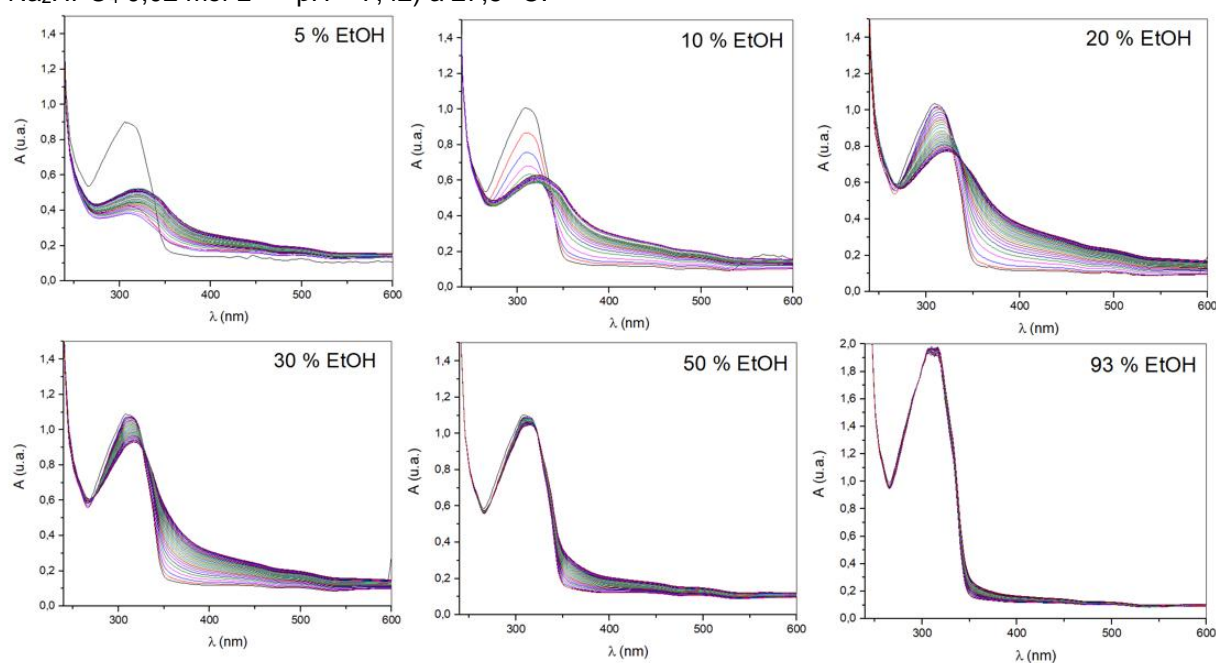
Para dar início ao estudo mecanístico da reação de O-despropargilação escolheu-se como primeiro substrato o éter aromático 4-PIPBT (**6**) e como catalisador

de paládio o tetracloropaladato(II) de sódio. A reação de despropargilação do substrato 4-PIPBT pode ser acompanhada pela presença de uma banda em torno de 360 nm em pH = 7,42, referente ao produto 4-HPBT, conforme discutido nos tópicos anteriores (item 5.2, pág. 47). As condições reacionais da cinética foram testadas primeiramente com tampão fosfato em pH = 7,42 e DMSO 5 %. Observou-se, no entanto, que a pequena concentração de solvente orgânico influenciava na formação do produto da reação e no acompanhamento da cinética, uma vez que se observava a formação de um precipitado. Dessa forma, optou-se por utilizar concentrações maiores de solvente orgânico, bem como a troca de DMSO por outros solventes.

Todos os testes cinéticos foram realizados com uma concentração de 0,05 mmol L⁻¹ do substrato e 0,025 mmol L⁻¹ do catalisador, ou seja, 50 mol %, por um período de 10 h. A temperatura da reação também foi mantida constante em 27,5 °C.

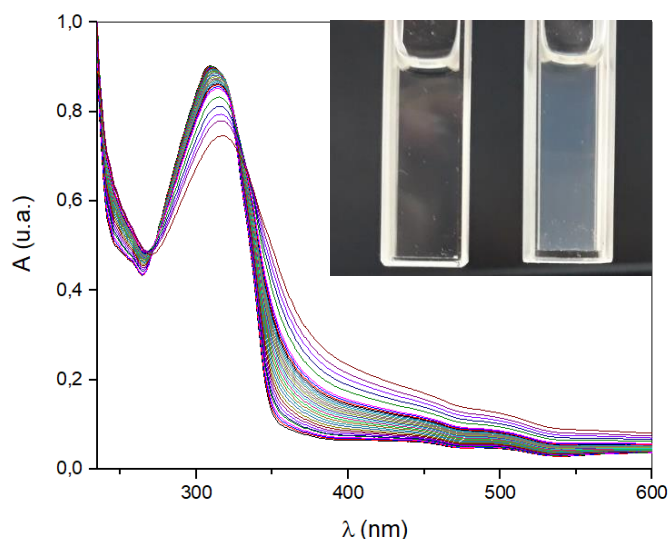
Primeiramente testou-se a substituição de DMSO por EtOH em igual proporção (5 %), no entanto, o mesmo comportamento de precipitação foi observado. A quantidade de EtOH foi então variada de 5 % a 93 % nas cubetas, sendo que nesse último caso os 7 % restantes equivalem a concentração de DMSO. Esse teste foi realizado a fim de avaliar a influência do solvente aquoso no perfil cinético da reação. As cinéticas espectrais obtidas para o substrato 4-PIPBT em diferentes concentrações de EtOH são mostradas na Figura 35.

Figura 35. Cinéticas espectrais para a reação de O-despropargilação do substrato 4-PIPBT (0,05 mmol L⁻¹) catalisada por Na₂PdCl₄ (0,025 mmol L⁻¹) em diferentes concentrações de EtOH (tampão KH₂PO₄/Na₂HPO₄ 0,02 mol L⁻¹ – pH = 7,42) a 27,5 °C.



Observa-se que em todos os casos houve uma mudança nos espectros de absorção com o passar do tempo, indicativo da conversão do substrato 4-PIPBT em outras espécies. É ainda possível observar que a quantidade de solvente aquoso no sistema reacional tem influência drástica no perfil obtido. Todos os espectros foram obtidos em mesmo intervalo de tempo, e nota-se claramente que quanto maior a concentração de solução tampão, mais rápida é a reação. Pode-se perceber, no entanto, que em todas as leituras houve um aumento na linha base com o passar do tempo, podendo ser um indicativo da precipitação de alguma espécie no meio reacional. Nos perfis espectrais obtidos em 50 % de EtOH e 93 % de EtOH verifica-se uma pequena variação na linha base, mas ao mesmo tempo uma menor conversão do substrato. A formação de precipitado (ou suspensão) também pode ser confirmada pela mudança na opacidade da solução dentro da cubeta. Com o passar do tempo, a solução límpida torna-se esbranquiçada, confirmando o aumento na linha base. A Figura 36 mostra a variação espectral para essa reação em EtOH 25 %, e no canto superior direito a fotografia da cubeta no início da reação e após 10 h.

Figura 36. Cinética espectral da O-despropargilação do substrato 4-PIPBT ($0,05 \text{ mmol L}^{-1}$) catalisada por Na_2PdCl_4 ($0,025 \text{ mmol L}^{-1}$) em EtOH 25 % a $27,5^\circ\text{C}$, e fotografia das cubetas no início da reação (esquerda) e após 10 h (direita).



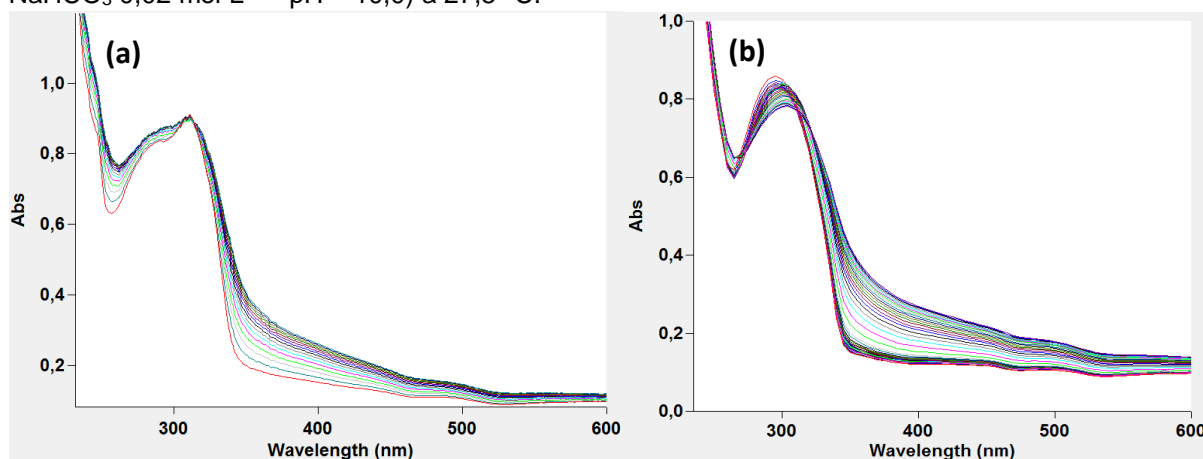
Percebendo-se a clara influência da solução aquosa nessa reação, optou-se na realização das cinéticas somente em solvente orgânico. Foram testados os solventes: DMSO, DMF, diclorometano, acetonitrila, THF e dioxano. Em todos os casos não foi observada nenhuma mudança no perfil espectral ao longo do tempo.

Não se observou alteração na linha base e nem a presença de outras bandas indicativas da conversão do substrato 4-PIPBT.

Nota-se, dessa forma, que em solventes orgânicos a reação de O-despropargilação do substrato 4-PIPBT não é eficiente, mas que em presença de água ocorre a conversão em outras espécies - não solúveis naquele meio - levando ao aumento da linha base e impossibilidade do acompanhamento cinético no UV-vis dessa reação nessas condições.

Os demais substratos propargilados (2-PIPBT e 3-PIPBT) também foram testados para a mesma reação. De início foi realizada a cinética com concentração de DMSO 5 % e solução tampão $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ – pH = 10,0 para os dois substratos. O pH mais elevado foi utilizado visto que os produtos 2-HBPT e 3-HBPT apresentam bandas distintas de absorção dos seus precursores nessa faixa de pH, conforme visto no item 5.2 dos Resultados e Discussão (pág. 47). Ocorre que para os dois substratos, o mesmo fenômeno de aumento da linha base e formação de precipitado foi observado. A substituição de DMSO por EtOH também foi realizada, seguido do aumento da concentração de solvente orgânico, porém sem nenhum resultado satisfatório para o acompanhamento cinético. Na Figura 37 são mostradas as variações espectrais da reação de O-despropargilação catalisada por paládio para os substratos 2-PIPBT e 3-PIPBT.

Figura 37. Cinéticas espectrais para a reação de O-despropargilação dos substrato (a) 2-PIPBT e (b) 3-PIPBT ($0,05 \text{ mmol L}^{-1}$) catalisada por Na_2PdCl_4 ($0,025 \text{ mmol L}^{-1}$) em EtOH 25 % (tampão $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ – pH = 10,0) a $27,5^\circ\text{C}$.



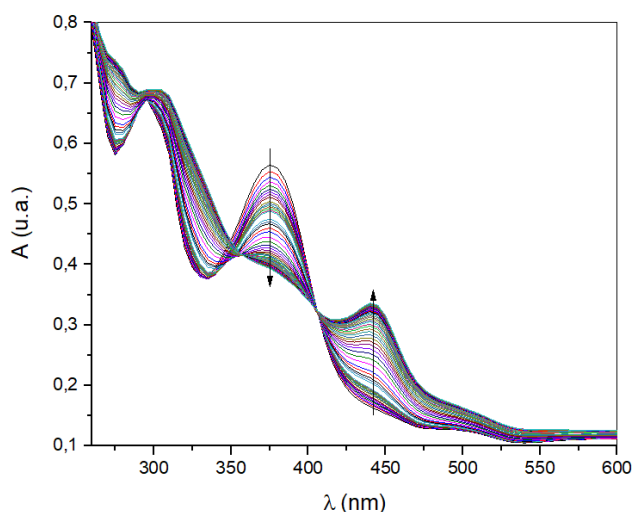
Nota-se claramente o aumento na linha base para as duas reações, o que impossibilita o acompanhamento cinético, visto que a absorbância medida em certo

comprimento de onda não é proporcional à concentração das espécies absorvente em questão. Como mencionado anteriormente, a reação para os substratos **(1)** e **(3)** também foi testada unicamente em solventes orgânicos (DMSO, DMF, diclorometano, acetonitrila, THF e dioxano), e novamente em todos os casos não foi observada qualquer variação do espectro de absorção durante o tempo de reação.

É possível concluir dessa forma que a presença de água no meio reacional é importante para a reação, contudo, a formação de produtos insolúveis nesse meio, impede que os substratos **(2, 4 e 6)** sejam usados como modelos no estudo da reação de O-despropargilação em meios biológicos por espectroscopia na região do UV-vis.

Durante os estudos cinéticos de despropargilação do substrato 2-PIPBT, no entanto, foi observado que um dos produtos da reação, o 2-HPBT, poderia se comportar como uma agente quelante do próprio catalisador da reação. Observando-se a estrutura do composto 2-HPBT é possível notar a presença de pelo menos três elementos (nitrogênio, enxofre e oxigênio) passíveis de se comportarem como bases de Lewis para a complexação com o paládio. Dessa forma, foi realizado um estudo espectroscópico na região do UV-vis para avaliar a formação do suposto complexo. As medidas foram tomadas em solução aquosa (tampão $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ – pH = 10,17) em EtOH 25 % e concentração total de substrato (2-HPBT) igual a $0,05 \text{ mmol L}^{-1}$. Adicionou-se também o volume correto de uma solução de tetracloropaladato(II) de sódio, para que a concentração de paládio em solução fosse de $0,025 \text{ mmol L}^{-1}$, ou seja 50 mol % em relação ao substrato. As leituras do espectro foram realizadas na região do UV-vis em temperatura constante de $27,5^\circ\text{C}$ por um período de 13 h. Na Figura 38 é mostrado o perfil cinético de formação do complexo com paládio.

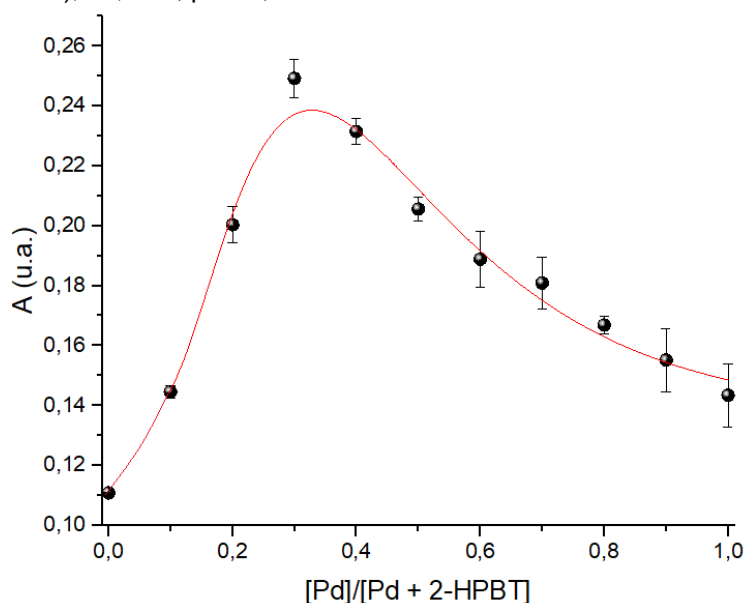
Figura 38. Variação espectral na região do UV-vis para a formação do complexo $\text{Pd}(\text{2-HPBT})_2$. ($[\text{2-HPBT}] = 0,05 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{Pd}^{2+}] = 0,025 \text{ mmol L}^{-1}$, tampão $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ – pH = 10,17; $27,5^\circ\text{C}$).



Observa-se na Figura 38 que com o passar do tempo a banda centrada em 375 nm, referente ao ânion fenolato do substrato 2-HPBT, sofre uma diminuição na absorbância. Essa diminuição é esperada, porque ao complexar com o paládio em solução, uma menor concentração de espécies aniônicas do ligante está presente no meio. Já a banda em 440 nm apenas é observada com adição do paládio a solução, indicando a complexação das espécies desprotonadas de 2-HPBT com o próprio metal. Essa banda, muito provavelmente está relacionada as transições *d-d* presentes no complexo formado. A coloração da solução em questão também sofre modificação, passando de incolor para amarelo claro.

A fim de avaliar a estequiometria de formação do complexo realizou-se uma análise pelo método de variação contínua, conhecido como gráfico de *Job*.⁶⁰ Nessa análise foi avaliado o valor de absorbância máxima da banda centrada em 440 nm com a variação da fração em mol de metal em solução. Enquanto a concentração total de metal e ligante ($[2\text{-HPBT}] + [\text{Pd}^{2+}] = 0,05 \text{ mmol L}^{-1}$) foi mantida constante durante todo experimento, a fração molar de paládio foi variada de zero a um. A Figura 39 apresenta o resultado obtido pelo método de variação contínua para o complexo de paládio.

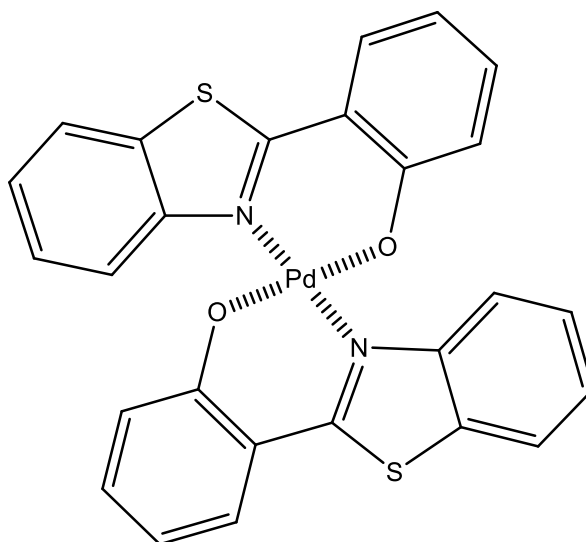
Figura 39. Variação da absorbância em 440 nm do complexo formado em diferentes frações em mol de paládio ("gráfico de *Job*"), 27,5 °C, pH 10,17.



A posição do máximo no gráfico de *Job* é indicativo da relação estequiométrica entre os reagentes tomados como estudo. Nesse caso, o valor no qual a derivada da curva plotada foi igual a zero, é igual a 0,33 ($X_{\text{Pd}^{2+}} = 0,33$), o que indica que a

complexação possui estequiometria 1:2, ou seja, duas moléculas de ligante (2-HPBT) para cada paládio. Outra informação importante que pode ser extraída da análise acima é uma prévia qualitativa do valor da constante de formação para o complexo. Observa-se que o formato do gráfico da Figura 39, se assemelha a uma curva mais angular, aproximando-se de um triângulo perfeito no limite. Esse formato indica que a constante de equilíbrio de formação do complexo é grande e que a ligação entre o ligante e o metal é forte, uma vez que a estabilização da energia do campo ligante favorece a complexação. Um alto valor de K_{eq} também pode ser confirmado considerando-se o efeito quelato presente durante a formação do complexo. O substrato 2-HPBT é ao mesmo tempo um ligante bidentado e ambidentado, podendo se complexar pelo oxigênio e pelo nitrogênio ou enxofre. A determinação exata do valor da constante de formação do complexo, todavia, é de extrema importância para uma discussão mais aprofundada em relação a termodinâmica da complexação e estrutura do complexo formado. Uma possível estrutura para o complexo $[Pd(2-HPBT)_2]$ é mostrada na Figura 40.

Figura 40. Possível estrutura para o complexo $[Pd(2-HPBT)_2]$ considerando a estrutura do ligante.



Análises adicionais de caracterização do complexo, como espectroscopia vibracional na região do infravermelho, espectroscopia Raman, difração de raios X, voltametria, entre outros, são necessárias para uma elucidação exata da estrutura do complexo bem como suas propriedades.

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Em vista dos resultados obtidos e dos objetivos propostos neste trabalho, serão feitas certas considerações em relação ao projeto desenvolvido.

Ao todo foram sintetizados seis substratos (**1** a **6**), sendo os substratos 2-HPBT (**1**), 3-HPBT (**3**) e 4-HPBT (**6**) precursores para as reações de propargilação e os substratos 2-PIPBT (**2**), 3-PIPBT (**4**) e 4-PIPBT (**6**) os respectivos compostos propargilados. Dentre estes, o composto (**4**) é inétido e foi sintetizado com modificação no procedimento padrão de propargilação devido a sua menor acidez.

Todos os substratos foram caracterizados por RMN ^1H , IV e ponto de fusão e apresentaram os principais sinais e bandas característicos para cada técnica. O substrato 3-PIPBT foi ainda caracterizado por RMN ^{13}C , DEPT e HRMS, confirmando a sua estrutura. Por demonstrarem pureza adequada e rendimento satisfatório, os substratos foram usados para dar sequência as análises propostas.

Os espectros de absorção da região do UV-vis determinados para os substratos (**1** a **6**) foram devidamente atribuídos as principais transições eletrônicas presentes em cada molécula. A principal banda identificada em todos os substratos está relacionada a transição de energia entre os orbitais HOMO e LUMO. Determinaram-se ainda os coeficientes de absortividade molar para os compostos, e para todos, o valor encontrado demonstra que as transições são permitidas pelas regras de seleção de Laporte e de spin. Observou-se ainda que os substratos propargilados apresentaram menor coeficiente devido a uma mudança pontual em sua estrutura (perda de planaridade).

Os valores de pK_a determinados a partir da titulação espectrofotométrica para os substratos 2-HPBT (**1**), 3-HPBT (**3**) e 4-HPBT (**5**) confirmaram a influência da posição do grupo hidroxila nas propriedades eletrônicas dos substratos, sendo o substrato (**5**) o mais ácido.

A espectrofotometria de fluorescência permitiu a determinação dos espectros de emissão e excitação para todos os substratos, bem como o cálculo do deslocamento de Stokes, indicativo do fenômeno de ESIPT para o substrato 2-HPBT (**1**). Inesperadamente, foram observadas duas bandas de emissão para o composto 3-HPBT (**3**), mostrando que mais análises são necessárias para elucidação e confirmação do fenômeno observado.

Os estudos cinéticos da reação de O-despropargilação dos substratos 2-PIPBT **(2)**, 3-PIPBT **(4)** e 4-PIPBT **(6)** catalisada por tetracloropaladato(II) de sódio, mostraram-se insatisfatórios em relação ao acompanhamento pelo técnica de espectrofotometria na região do UV-vis. Para todas as condições testadas, observou-se um aumento na linha base do espectro reacional, o que impossibilitou a determinação de parâmetros cinéticos como constante de velocidade (k), velocidades iniciais (V_0), fatores de conversão, energia de ativação (E_a), entre outros.

A influência da água nessa reação também foi investigada e observou-se que apenas em soluções aquosas ocorria a formação de precipitado, já em solventes orgânicos nenhuma modificação no espectro era observada.

Identificou-se ainda um complexo inétido de paládio, formado a partir da complexação com o substrato 2-HPBT **(1)**, o qual apresentou uma banda em 440 nm característica de transições $d-d$ de metais. A estequiometria de formação foi determinada pelo gráfico de *Job*, concluindo ser $[Pd(2-HPBT)_2]$. Outras análises de RMN, IV, Raman e DRX são necessárias para uma caracterização completa do complexo e elucidação de sua estrutura.

Por fim, pode-se concluir que os substratos sintetizados não são bons modelos para o acompanhamento cinético na região do UV-vis da reação de O-despropargilação de éteres aromáticos, visto sua aplicação em sistemas biológicos nos quais a concentração de solventes orgânicos deve ser mínima. É necessário ressaltar, entretanto, que tentativas de identificação dos produtos formados nesses experimentos estão sendo realizadas, e que outras técnicas de acompanhamento cinético podem se mostrar mais úteis para esses substratos, como por exemplo RMN e HPLC.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WONG, C.-H. e ZIMMERMAN, S. C. Orthogonality in organic, polymer, and supramolecular chemistry: from Merrifield to click chemistry. **Chemical Communications**, v. 49, n. 17, p. 1679-1695, 2013.
2. SLETTEN, E. M. e BERTOZZI, C. R. Bioorthogonal Chemistry: Fishing for Selectivity in a Sea of Functionality. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 48, n. 38, p. 6974-6998, 2009.
3. RAMIL, C. P. e LIN, Q. Bioorthogonal chemistry: strategies and recent developments. **Chemical Communications**, v. 49, n. 94, p. 11007-11022, 2013.
4. SONG, F. L.; GARNER, A. L. e KOIDE, K. A highly sensitive fluorescent sensor for palladium based on the allylic oxidative insertion mechanism. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, n. 41, p. 12354-+, 2007.
5. CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. Organic Chemistry. **Oxford University Press**, p. 1291, 2000.
6. TROST, B. M. Selectivity: a key to synthetic efficiency. **Science**, 219, 245-250, 1983.
7. SCHELHAAS, M.; WALDMANN, H. Protecting Group Strategies in Organic Synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, Int. Ed. Engl., 35, 2056-2083, 1996.
8. BERGMANN, M.; ZERVAS, L. Über ein allgemeines Verfahren der Peptid-Synthese. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)**; 65:1192–1201, 1932.
9. BARANY, G. e MERRIFIELD, R. B. A new amino protecting group removable by reduction. Chemistry of the dithiasuccinoyl (Dts) function. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, n. 22, p. 7363-7365, 1977.
10. CARPINO, L. A.; HAN, G. Y. 9-Fluorenylmethoxycarbonyl amino-protecting group, **J. Org. Chem.**, 37, 3404-3409, 1972.
11. ISIDRO-LLOBET, A.; ALVAREZ, M. e ALBERICIO, F. Amino Acid-Protecting Groups. **Chemical Reviews**, v. 109, n. 6, p. 2455-2504, 2009.
12. MERRIFIELD, R. B. Solid Phase Synthesis (Nobel Lecture). **Angewandte Chemie International Edition**, Int. Ed. Engl., 24, 799-810, 1985.
13. BROADWATER, S. J. et al. One-pot multi-step synthesis: a challenge spawning innovation. **Org. Biomol. Chem.**, 3, 2899-2906, 2005.

14. GONG, Y. e PAN, L. Recent advances in bioorthogonal reactions for site-specific protein labeling and engineering. **Tetrahedron Letters**, v. 56, n. 17, p. 2123-2132, 2015.
15. LI, J. et al. Palladium-triggered deprotection chemistry for protein activation in living cells. **Nature Chemistry**, v. 6, n. 4, p. 352-361, 2014
16. WEISS, J. T. et al. Development and Bioorthogonal Activation of Palladium-Labile Prodrugs of Gemcitabine. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, n. 12, p. 5395-5404, 2014
17. WEISS, J. T. et al. Extracellular palladium-catalysed dealkylation of 5-fluoro-1-propargyl-uracil as a bioorthogonally activated prodrug approach. **Nature Communications**, v. 5:3277, n., p. 1-9, 2014.
18. BERTOZZI, C. Chemistry in living systems. **Abstracts of Papers of the American Chemical Society**, v. 244, n., p., 2012.
19. SHIH, H. W.; KAMBER, D. N. e PRESCHER, J. A. Building better bioorthogonal reactions. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 21, n., p. 103-111, 2014.
20. SAXON, E.; BERTOZZI, and C. R. Cell surface engineering by a modified Staudinger reaction. **Science**, 287, 2007-2010, 2000.
21. LIN, F. L. et al. Mechanistic investigation of the staudinger ligation. **J. Am. Chem. Soc.** 127, 2686-95, 2005.
22. CHANKESHWARA, S. V.; INDRIGO, E. e BRADLEY, M. Palladium-mediated chemistry in living cells. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 21, n., p. 128-135, 2014.
23. UNCITI-BROCETA, A. Bioorthogonal catalysis: Rise of the nanobots. **Nature Chemistry**, v. 7, n. 7, p. 538-539, 2015.
24. VÖLKER, T. et al. Progress towards Bioorthogonal Catalysis with Organometallic Compounds. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 53, n. 39, p. 10536-10540, 2014.
25. KOLB, H. C.; FINN, M. G.; SHARPLESS, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. **Angewandte Chemie International Edition**, Int. Ed. 2001, 40, 2004.
26. TORNFE, C. W.; CHRISTENSEN, C.; MELDAL, M. Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]-triazoles by regiospecific copper(i)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. **J. Org. Chem.**, 67, 3057-64, 2002.

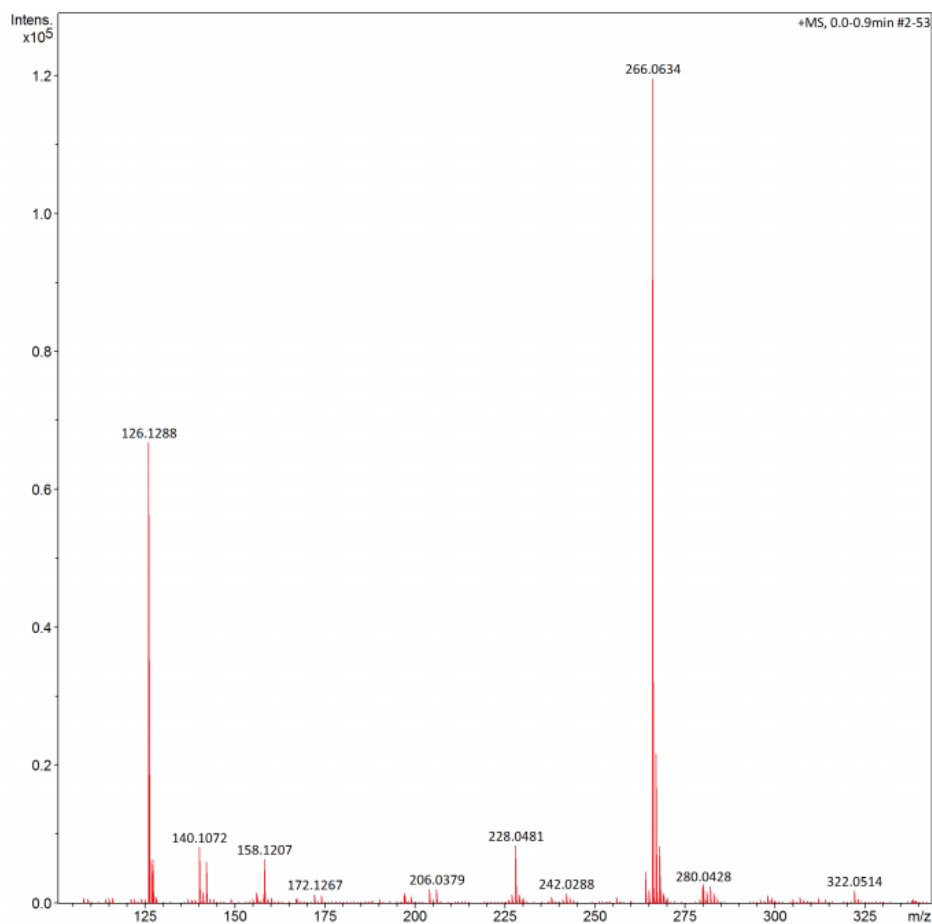
27. FREITAS, L. B. de O. et al. The "click" reaction in the synthesis of 1,2,3-triazoles: chemical aspects and applications. **Quim. Nova**, Vol. 34, No. 10, 1791-1804, 2011.
28. WANG, T.; GUO, Z. Copper in medicine: homeostasis, chelation therapy and antitumor drug design. **Curr. Med. Chem.**, 13, 525-37, 2006.
29. BASKIN, J. M. Baskin, BERTOZZI, C. R. Copper-free click chemistry in living animals. **Aldrichimica Acta**, 43, 1523, 2010.
30. YANG, M. Y.; LI, J. e CHEN, P. R. Transition metal-mediated bioorthogonal protein chemistry in living cells. **Chemical Society Reviews**, v. 43, n. 18, p. 6511-6526, 2014.
31. MELBER, D. C. **Environmental Health Criteria 226: Palladium**. World Health Organization, 2002.
32. LI, J. e CHEN, P. R. Development and application of bond cleavage reactions in bioorthogonal chemistry. **Nature Chemical Biology**, v. 12, n. 3, p. 129-137, 2016.
33. VÖLKER, T. e MEGGERS, E. Transition-metal-mediated uncaging in living human cells - an emerging alternative to photolabile protecting groups. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 25, n., p. 48-54, 2015.
34. BOCHET, C. G. Chromatic orthogonality in organic synthesis. **Synlett**, 2268-2274, 2004.
35. _____. Photolabile protecting groups and linkers. **J. Chem. Soc.**, Perkin Trans. 1, 125-142, 2002.
37. SANTRA, M. et al. Fluorescent detection of palladium species with an O-propargylated fluorescein. **Chemical Communications**, v. 46, n. 22, p. 3964-3966, 2010.
36. YUSOP, R. M. et al. Palladium-mediated intracellular chemistry. **Nature Chemistry**, v. 3, n. 3, p. 239-243, 2011.
37. WANG, J. et al. Chemical Remodeling of Cell-Surface Sialic Acids through a Palladium-Triggered Bioorthogonal Elimination Reaction. **Angewandte Chemie-International Edition**, v. 54, n. 18, p. 5364-5368, 2015.
38. ZHANG, H. X.; GUIBÉ, F. e BALAVOINE, G. Palladium catalyzed hydrostannation of alkynes and palladium-catalyzed hydrostannolysis of propargyl or propargyloxycarbonyl derivatives of various functional groups. **Tetrahedron Letters**, v. 29, n. 6, p. 619-622, 1988.

39. INANAGA, J.; SUGIMOTO, Y. e HANAMOTO, T. A novel method for the generation of 2,3-naphthoquinodimethanes utilizing samarium(II) iodide-promoted allene synthesis. **Tetrahedron Letters**, v. 33, n. 46, p. 7035-7038, 1992.
40. AURRECOECHEA, J. M. e ANTÓN, R. F. S. Synthesis of homopropargyl cycloalkanols by Pd-catalyzed samarium diiodide-promoted intramolecular coupling of alkynyl esters with aldehydes and ketones. **Journal of Organic Chemistry**, v. 59, n. 4, p. 702-704, 1994.
41. SWAMY, V. M.; ILANKUMARAN, P. e CHANDRASEKARAN, S. Selective Deprotection of Propargyl Ethers Using Tetrathiomolybdate. **Synlett**, v. 1997, n. Sup. I, p. 513-514, 1997.
42. PAL, M.; PARASURAMAN, K. e YELESWARAPU, K. R. Palladium-Catalyzed Cleavage of O/N-Propargyl Protecting Groups in Aqueous Media under a Copper-Free Condition. **Organic Letters**, v. 5, n. 3, p. 349-352, 2003.
43. RAMBABU, D. et al. Pd/C-mediated depropargylation of propargyl ethers/amines in water. **Tetrahedron Letters**, v. 54, n. 9, p. 1169-1173, 2013.
44. LIU, B. et al. A new ratiometric ESPT sensor for detection of palladium species in aqueous solution. **Chemical Communications**, v. 48, n. 23, p. 2867 - 2869, 2012.
45. KUMAR, M.; KUMAR, N. e BHALLA, V. Highly selective fluorescent probe for detection and visualization of palladium ions in mixed aqueous media. **RSC Advances**, v. 3, n. 4, p. 1097-1102, 2013.
46. GUO, H. Y. A simple and efficient synthesis of 2-substituted benzothiazoles catalyzed by H₂O/HCl. **Chinese Chemical Letters**, v. 20, p. 1408-1410, 2009.
47. STEVENS, M. F. G.; MCCALL, C. J.; LELIEVIELD, P. A. P.; RICHTER, A.; DAVIES, D. E. Structural studies on bioactive compounds. 23. Synthesis of polyhydroxylated 2-phenylbenzothiazoles and a comparison of their cytotoxicities and pharmacological properties with genistein and quercetin. **J. Med. Chem.** 1994, 37, 1689-1695.
48. SHARGHI, H.; ABERI, M.; DOROODMAND, M. M.; One-pot synthesis of 2-arylbenzimidazole, 2-arylbenzothiazole and 2-arylbenzoxazole derivatives using vanadium(IV)–salen complex as homogeneous catalyst and vanadium(IV)–salen complex nanoparticles immobilized onto silica as a heterogeneous nanocatalyst. **J Iran Chem. Soc.** 2012, 9:189–204.

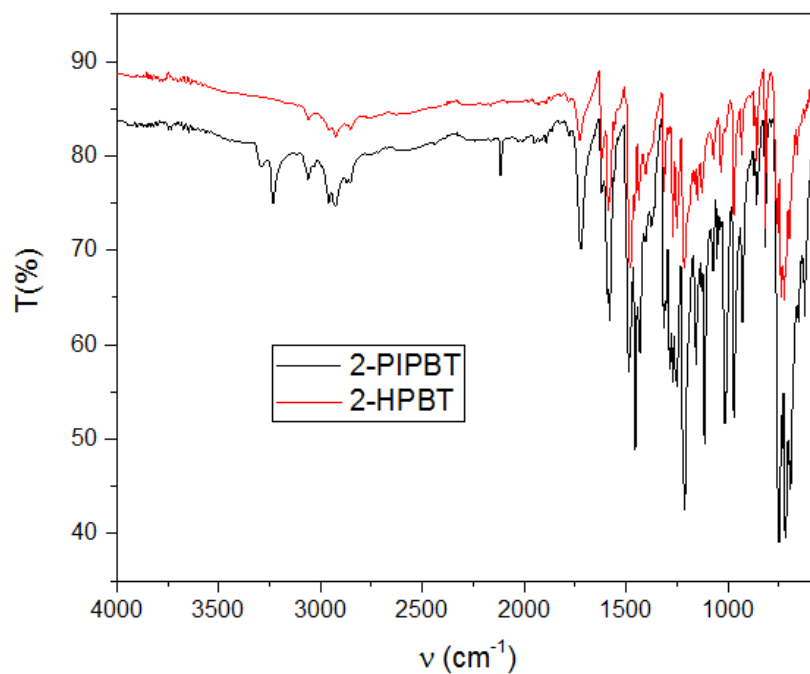
49. KATKAR, S. S. et al. ZnO-beta zeolite: As an effective and eco-friendly heterogeneous catalyst for the synthesis of benzothiazole derivatives. **Chinese Chemical Letters**, 2010, V21(4), 421-425.
50. WEEKES, A. A. et al. Rapid and Convenient Thermal or Microwave-Assisted Synthesis of Substituted 2-Phenylbenzothiazoles. **Synthetic Communications**, 2010, vol. 40, # 20, p. 3027 – 3032.
51. SILVERSTEIN, Robert M.; WEBSTER, Francis X.; KIEMLE, David J. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 7. ed. Rio de Janeiro: **LTC**, c2006. xiv, 490 p.
52. PANDEY, U.; SRIVASTAVA, M.; SINGH, R.P.; YADAV, R.A. DFT study of conformational and vibrational characteristics of 2-(2-hydroxyphenyl) benzothiazole molecule. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. 129, 61 – 73, 2014.
53. XU, L., WANG, Q.; ZHANG, Y. Electronic effect on the photophysical properties of 2-(2-hydroxyphenyl) benzothiazole-based excited state intramolecular proton transfer fluorophores synthesized by sonogashira-coupling reaction. **Dyes and Pigments**, 136, 732 – 741, 2017.
54. PERRIN, D. D; ARMAREGO, W. L. F. Purification of laboratory chemicals. 4th ed. **Oxford**: Butterworth-Heinemann, c1996. (reimpressão 1998) XI, 529p.
55. SKOOG, D. A. et al. Fundamentos de química analítica. São Paulo: **Cengage Learning**, c2015. xvii, 950, [100] p.
56. SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W. Química inorgânica. 4. ed. Porto Alegre: **Bookman**, 2008. vi, 847 p.
57. SANTOS, F. Da S. et al. Small heterocycles as highly luminescent building blocks in the solid state for organic synthesis. **New J. Chem.**, 40, 2785—2791, 2016.
58. _____. Confinement effect on the photophysics of ESIPT fluorophores. **J. Mater. Chem. C**, 4, 2820—2827, 2016.
59. Livro Fluorescencia.
60. Job, P. Formation and Stability of Inorganic Complexes in Solution. **Ann. Chim.**, 9, 113-203, 192

APÊNDICE

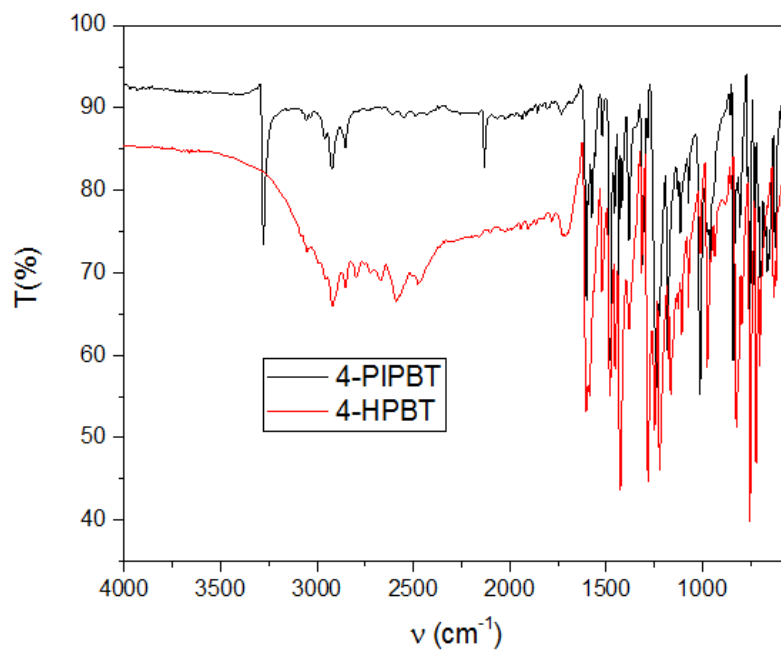
Anexo A. Espectroscopia de massas de alta resolução do composto 3-PIPBT (**4**) em CH_2Cl_2 utilizando fonte de ionização APPI.



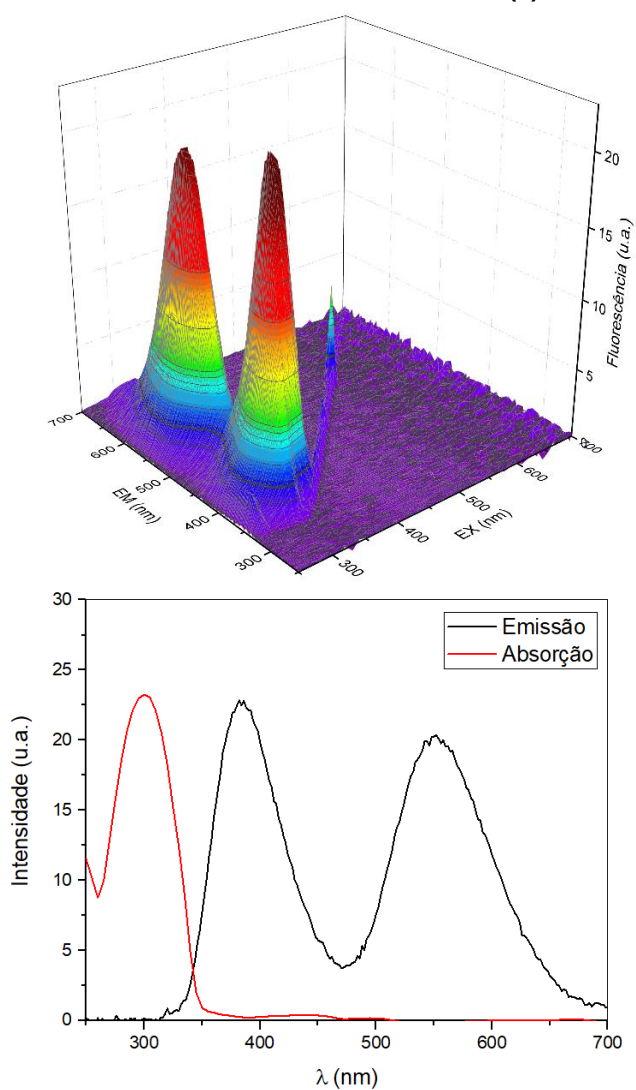
Anexo B. Espectro na região do infravermelho para os substratos 2-HPBT (vermelho) e 2-PIPBT (preto) (pastilha de KBr).



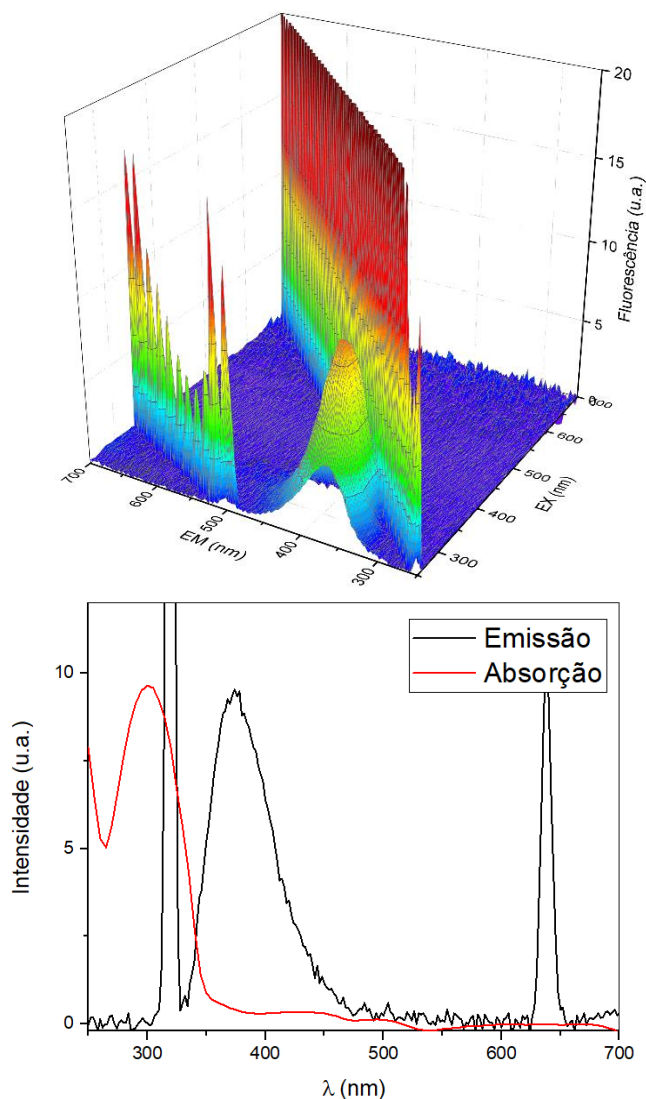
Anexo C. Espectro na região do infravermelho para os substratos 4-HPBT (vermelho) e 4-PIPBT (preto) (pastilha de KBr).



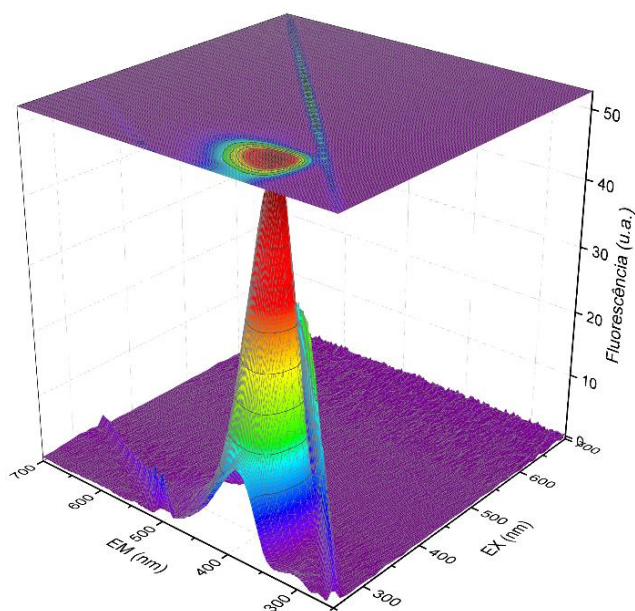
Anexo D. (a) Espectro de absorção e de emissão de fluorescência normalizada para o substrato 3-HPBT (**3**). (b) Espectro 3D de fluorescência do substrato 3-HPBT (**3**) em DMSO 5 %.

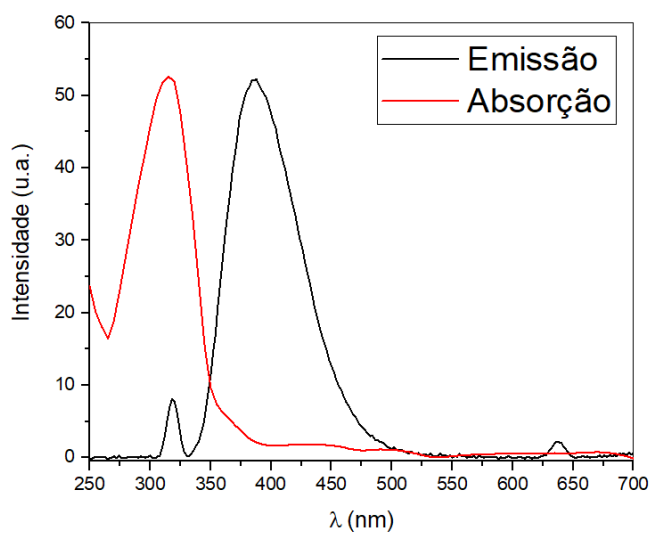


Anexo E. (a) Espectro de absorção e de emissão de fluorescência normalizada para o substrato 3-PIPBT (**4**). (b) Espectro 3D de fluorescência do substrato 3-PIPBT (**4**) em DMSO 5 %.



Anexo F. (a) Espectro de absorção e de emissão de fluorescência normalizada para o substrato 4-HPBT (**5**). (b) Espectro 3D de fluorescência do substrato 4-HPBT (**5**) em DMSO 5 %.





Anexo G. (a) Espectro de absorção e de emissão de fluorescência normalizada para o substrato 4-PIPBT (**6**). (b) Espectro 3D de fluorescência do substrato 4-PIPBT (**6**) em DMSO 5 %.

